

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 962**

51 Int. Cl.:

C07D 231/12 (2006.01) **A61K 31/496** (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01) **A61P 25/28** (2006.01)
C07D 403/06 (2006.01)
C07D 413/06 (2006.01)
C07D 261/04 (2006.01)
C07D 261/08 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.02.2015** **PCT/EP2015/052683**
87 Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2015** **WO15121212**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2015** **E 15707888 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019** **EP 3105206**

54 Título: **Derivados de morfina que tienen una actividad de inhibición selectiva de PDE4D**

30 Prioridad:

14.02.2014 EP 14425015

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

24.04.2020

73 Titular/es:

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA (33.3%)
Via Balbi, 5
16126 Genova, IT;
THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY
(33.3%) y
MAASTRICHT UNIVERSITY (33.3%)

72 Inventor/es:

BRUNO, OLGA;
BRULLO, CHIARA;
ROMUSSI, ALESSIA;
FEDELE, ERNESTO;
RICCIARELLI, ROBERTA;
ARANCIO, OTTAVIO y
PRICKAERTS, JOS

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 755 962 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de morfolina que tienen una actividad de inhibición selectiva de PDE4D

5 **Campo de aplicación**

La presente invención se refiere al campo técnico de la industria farmacéutica.

10 En particular, la invención se refiere a nuevos inhibidores de PDE4 selectivos de la isoforma de tipo D, que pueden mejorar la liberación de AMPc en el hipocampo y que son útiles para restablecer las alteraciones de la memoria en las enfermedades neurodegenerativas, en particular, la enfermedad de Alzheimer (EA), sin producir efectos secundarios.

15 **Técnica anterior**

La demencia es un síndrome que puede estar causado por diversos trastornos progresivos y que afecta a la memoria, al razonamiento, al comportamiento y a la capacidad de realizar actividades cotidianas. La enfermedad de Alzheimer (EA) es el tipo más común de demencia.

20 La etiología y la patogenia de la EA siguen sin estar claras, pero se ha encontrado que son muchos los factores implicados en la EA. La desregulación de algunos sistemas enzimáticos (colinesterasas, fosfodiesterasas) desempeña un papel fundamental en los síntomas cognitivos. Otro factor etiopatológico importante es la alteración de los niveles de amiloide A β y la agregación de fibrillas que causan la muerte de las neuronas.

25 Por el momento, solo hay cinco fármacos disponibles para atenuar los déficits de memoria en la enfermedad de Alzheimer. Además, todos los fármacos (cuatro inhibidores de la acetilcolinesterasa y un antagonista de NMDA) tienen una eficacia limitada y tienen graves efectos secundarios. Basándose en la investigación con animales, los inhibidores de la PDE se han sugerido como una diana prometedora para el tratamiento de una variedad de déficits cognitivos y, en particular, del deterioro de la memoria.

30 El proceso cognitivo de consolidación de la memoria depende estrictamente del nivel de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) en determinados compartimentos cerebrales. De hecho, una gran cantidad de pruebas ha demostrado que la potenciación a largo plazo (LTP), el sustrato neuroquímico de los procesos de aprendizaje y de memoria, requiere el funcionamiento de la vía AMPc/PKA/CREB, y que su manipulación genética o farmacológica puede afectar a las funciones cognitivas.

35 En la última década, una gran cantidad de pruebas ha demostrado que los compuestos potenciadores del AMPc pueden beneficiar a los pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA). La fosfodiesterasa 4 (PDE4) controla específicamente los niveles de AMPc intracelulares, hidrolizándolo a 5'-AMP.

40 En los últimos diez años, varios estudios importantes demostraron el papel fundamental de la fosfodiesterasa de tipo 4 (PDE4) en la función sináptica y en la memoria, y evidenciaron que el Rolipram (un conocido inhibidor no selectivo de PDE4) puede neutralizar la disfunción inducida por el beta-amiloide de la vía AMPc/PKA/CREB, para restablecer la LTP del hipocampo y mejorar los déficits cognitivos en un modelo murino de EA (Gong, Arancio O. *et al*, *J Clin. Invest.*, 2004; Rutten K., Prickaerts J. *et al.*, *Neurobiol. of Learn and Mem.* 2008).

45 Sin embargo, a pesar de la posible relevancia clínica, el uso terapéutico del Rolipram es limitado debido a su principal efecto secundario, la emesis. Dado que el Rolipram inhibe todas las isoformas de la PDE4, los solicitantes se preguntaron si una estrategia farmacológica más selectiva podría evitar o paliar los efectos secundarios, y que siguiera funcionando en la memoria.

50 Un estudio muy reciente en ratones nuligénicos en PDE4 indica que la PDE4D, y en particular, las variantes de corte y empalme PDE4D4-D5, desempeñan un papel fundamental en la mediación de la memoria. Este estudio también muestra que la expresión reducida de PDE4D4 y PDE4D5 potencia la memoria sin causar emesis (Li Y. F. *et al.*, *J. Neurosci.* 2011, 5, 172), apoyando así enormemente la hipótesis anterior.

55 Finalmente, uno de los solicitantes publicó recientemente un estudio sobre un primer inhibidor selectivo de PDE4D (GEBR-7b), que aumenta la función de la memoria en ratones y ratas sin emesis (Bruno *et al*, *Br. J. Pharm.*, 2011, 164:2054). Además, demostraron que el tratamiento profiláctico continuo con GEBR-7b puede mejorar la memoria espacial en el modelo de ratones APPswe/PS1dE9 de la enfermedad de Alzheimer (EA), incluso una vez iniciada la patología, sin alterar la regulación emocional o neuroendocrina [A. S. R. Sierksma *et al.*, *Neuropharmacology*, 2014, 77:120].

60 O. Bruno *et al.*, *Farmaco*, 2004, 59(3), 223, desvelan ciertos derivados de 3-ciclopentiloxi-4-metoxibenzaldehído y de ácido 3-ciclopentiloxi-4-metoxibenzoico como inhibidores de PDE4 que pueden inhibir la activación de los neutrófilos.

O. Bruno *et al.*, J. Med. Chem. 2009, 52, 6546-6557, desvelan derivados de 3-ciclopentiloxi-4-metoxibenzaldehído como inhibidores selectivos de PDE4D.

C. Brullo *et al.*, J. Med. Chem. 2014, 57:7061, desvelan nuevos derivados de 3-ciclopentiloxi-4-metoxibenzaldehído como inhibidores selectivos de PDE4D.

Los siguientes compuestos de dihidroisoxazolilo se conocen del registro de la base de datos de los resúmenes químicos:

RN 1348351-21-2: [3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-4,5-dihidro-5-isoxazolil]-1-piperidinil-metanona;

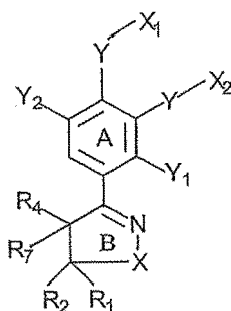
RN 902289-52-5: [3-(3,4-dimetoxifenil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]-4-morfolinil-metanona;

RN 902289-50-3: [3-(3,4-dimetoxifenil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]-1-pirrolidinil-metanona;

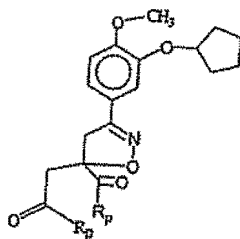
RN 899532-24-2: [3-(3,4-dimetoxifenil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]-1-piperidinil-metanona.

No se desvela actividad para los compuestos anteriores.

El documento WO 2005/021515 A2 desvela inhibidores de PDE4 que tienen la siguiente fórmula:



En particular, se desvelan los siguientes compuestos



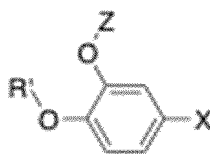
en los que R_p es un anillo de heterociclilo o heteroarilo, en particular, un anillo de pirrolidinilo o piperidinilo.

El documento WO2004/094411 también desvela inhibidores de PDE4.

Sumario de la invención

El problema básico de la presente invención ha sido proporcionar nuevos compuestos que sean inhibidores selectivos de PDE4D. Se pretende que estos compuestos sean útiles en la prevención de la pérdida de memoria, que es una de las discapacidades más graves en la enfermedad de Alzheimer (EA). Además, los compuestos proporcionados por la presente invención representan nuevas herramientas farmacológicas que podrían ser de gran relevancia para aumentar el conocimiento sobre el papel de las isoformas de PDE4D en las funciones del SNC, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, en particular, en la EA.

El problema mencionado anteriormente se ha resuelto mediante compuestos de la siguiente fórmula (I),



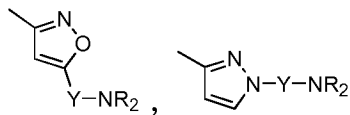
(I)

en donde:

Z = ciclopentilo,

5 R' = -CH₃, CHF₂,

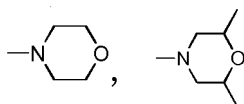
X =



10

Y = -CO; -C=O(CH₂), -CH(OH)-CH₂, -CH₂-C=O, -CH₂-CH₂-C=O; -CH₂-CH(OH)-CH₂, -CH₂-CHOCOR₁-CH₂;

NR₂ =



15

R₁ = alquilo C₁-C₃, preferentemente, CH₃;

y mediante enantiómeros, diastereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

20

Los compuestos más preferidos de acuerdo con la presente invención son los que se enumeran a continuación:

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-morfolin-4-iletanona

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)etanona

1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-morfolin-4-iletanol

25

1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)etanol

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)morfolina

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)-2,6-dimetilmorfolina

1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}-3-morfolin-4-ilpropan-2-ol

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}-3-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)propan-2-ol

30

Clorhidrato de acetato de 2-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}-1-(morfolin-4-ilmetil)etilo

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}acetil)morfolina

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}acetil)-2,6-dimetilmorfolina

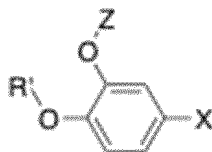
4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}propanoil)morfolina

4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}propanoil)-2,6-dimetilmorfolina

35

4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-1-il}propanoil)morfolina

La presente invención también proporciona compuestos de fórmula (I),



(I)

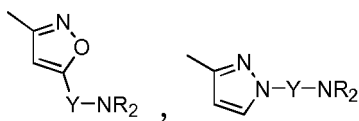
40

en donde:

Z = ciclopentilo

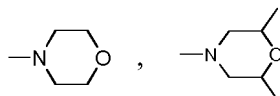
45 R' = -CH₃, CHF₂,

X =



Y = -CO; -C=O(CH₂), -CH(OH)-CH₂, -CH₂-C=O, -CH₂-CH₂-C=O; -CH₂-CH(OH)-CH₂; -CH₂-CH(OCOR₁)-CH₂;

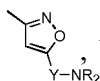
5 NR₂ =



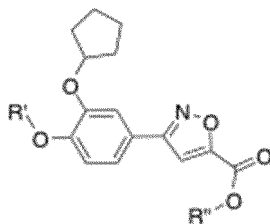
R₁ = alquilo C₁-C₃, preferentemente, CH₃;

10 y enantiómeros, diastereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para su uso como un medicamento.

La presente invención también se refiere a un proceso de preparación de los compuestos mencionados



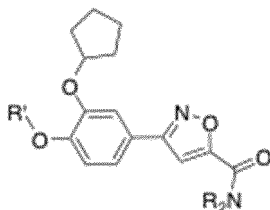
15 anteriormente de fórmula (I), en los que X= anteriormente, identificados a partir de ahora como los compuestos de fórmula (Ic), que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (V)



(V)

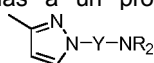
20 en donde R" es alquilo C₁-C₄,

con R₂NH, en donde NR₂ es como se ha definido anteriormente, para producir el siguiente compuesto de fórmula (Ic)



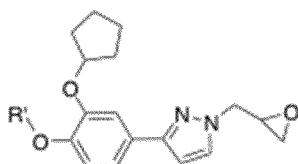
(Ic)

25 La presente invención se refiere además a un proceso de preparación de los compuestos mencionados



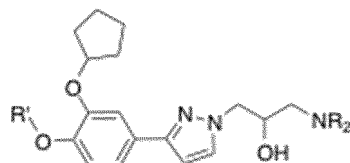
anteriormente de fórmula (I), en la que X= anteriormente, identificados a partir de ahora como los compuestos de fórmula (Id), que comprende la

30 reacción de un compuesto de fórmula (VI):



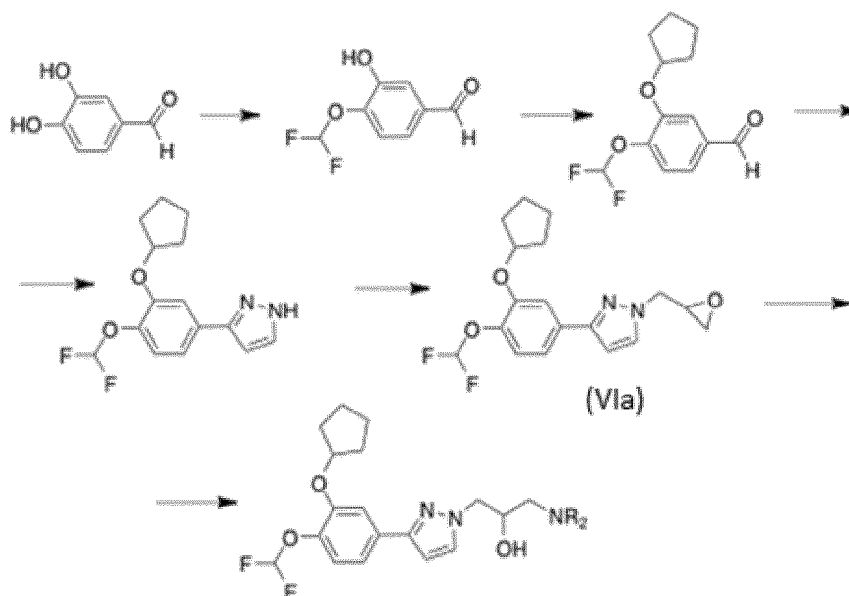
(VI)

con R_2NH , en donde NR_2 es como se define en la reivindicación 1, para producir el siguiente compuesto de fórmula (Id)



(Id)

En el último proceso, para el caso en el que R' es $-CHF_2$, el compuesto intermedio relevante de fórmula (VIa) se prepara de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



en donde la primera etapa de conversión de 3,4-dihidroxibenzaldehído en 4-(difluorometoxi)-hidroxibenzaldehído implica la reacción de 3,4-dihidroxibenzaldehído con un éster de ácido clorodifluoroacético, preferentemente, clorodifluoroacetato de metilo en presencia de Cs_2CO_3 bajo irradiación con microondas a una potencia inferior o igual a 300 W.

La presente invención se refiere además a los compuestos de fórmula (I) como se han definido anteriormente y a sus enantiómeros, diastereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables, para su uso como un medicamento con actividad inhibidora de PDE4D.

La invención se refiere además a dichos compuestos de fórmula (I) para su uso como un medicamento para el tratamiento de la demencia, en particular, la enfermedad de Alzheimer.

La invención se refiere además a dichos compuestos de fórmula (I) para su uso como un medicamento para potenciar la memoria.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se ha definido anteriormente, o un enantiómero o un diastereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son aquellas formadas con ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, tartárico, maleico, succínico y cítrico, y con ácidos inorgánicos tales como ácido nítrico, clorhídrico, sulfúrico y fosfórico.

5 Los compuestos de acuerdo con la invención que tienen uno o más átomos de carbono asimétricos pueden existir en forma de enantiómeros puros, en forma de diastereoisómeros puros, en forma de mezclas racémicas de enantiómeros, racematos y mezclas de racematos.

10 Los compuestos y las composiciones de acuerdo con la invención pueden administrarse con cualquier sistema de administración eficaz y disponible, que comprende, pero sin limitación, la vía oral, bucal y parenteral, por inhalación, aplicación tópica, mediante inyección, y por vía transdérmica o rectal (por ejemplo, por medio de supositorios) en formulaciones de dosis unitarias que contengan portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables y no tóxicos, convencionales. La administración por vía parenteral comprende técnicas de inyección o infusión
15 subcutánea, intravenosa, intramuscular e intraesternal.

Las formas farmacéuticas sólidas para la administración por vía oral comprenden, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, polvos, gránulos y geles. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como, por ejemplo, sacarosa, lactosa o almidón. Estas formas
20 farmacéuticas normalmente también comprenden sustancias adicionales diferentes de los diluyentes inertes, tales como, por ejemplo, agentes lubricantes como el estearato de magnesio.

Los preparados inyectables, por ejemplo, las soluciones o suspensiones inyectables estériles acuosas u oleosas, pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida y, opcionalmente, usando agentes de dispersión,
25 humectación y/o suspensión apropiados.

Los preparados farmacéuticos de acuerdo con la presente invención pueden producirse usando técnicas farmacéuticas convencionales, como se describe en las diferentes farmacopeas o manuales del campo, tales como, por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook", Mack Publishing, Nueva York, 18ª Ed., 1990.
30

La dosis media diaria de los compuestos de acuerdo con la presente invención depende de muchos factores, tales como, por ejemplo, la gravedad de la enfermedad y el estado del paciente (edad, peso, sexo): En general, la dosis puede variar de 1 mg a 1.500 mg al día de compuesto de acuerdo con la invención, opcionalmente, dividida en más administraciones.
35

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un análisis de transferencia Western de γ -H2AX en células HTLA tratadas con etopósido 100 μ M, compuesto XVIIIa y compuesto XXIIa de acuerdo con la presente invención, compuesto candidato de referencia
40 GEBR-7b o un volumen igual de disolvente (DMSO).

La Figura 2 es un histograma que muestra el efecto de los compuestos GEBR-7b, XVIIIa y XXIIa sobre la acumulación del AMPc inducido por forskolina (FSK) en células neuronales cultivadas.

45 La Figura 3 es un diagrama que muestra los efectos de los inhibidores de PDE4D XVIIIa y GEBR-7b en el AMPc extracelular del hipocampo de ratas que se mueven libremente.

Las Figuras 4 y 5 son diagramas que representan los resultados de un estudio electrofisiológico realizado en ratones Tg2576.
50

La Figura 6 es un diagrama que muestra los resultados de un experimento de dosis-respuesta de OLT con XXIIa, que reflejan los efectos de diferentes dosis de XXIIa en el rendimiento de la memoria espacial de objetos.

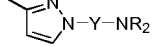
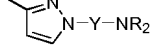
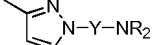
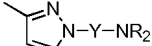
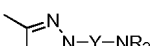
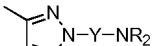
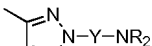
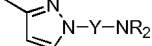
La Figura 7 es un diagrama que muestra los resultados de la prueba de tareas de alternancia continua del laberinto en Y sobre el compuesto XXIIa.
55

La Figura 8 es un diagrama que muestra los resultados de la prueba de anestesia mediada por el adrenoceptor α_2 inducida por ketamina/xilazina realizada sobre el compuesto XXIIa, para medir sus propiedades eméticas.

60 Descripción detallada

La presente invención se describirá en mayor profundidad haciendo referencia a algunos ejemplos de preparación de compuestos de acuerdo con la invención y de evaluación de su actividad.

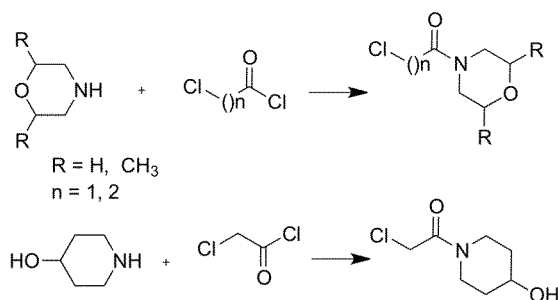
65 Entre los compuestos de acuerdo con la presente invención, se mencionan, en particular, los indicados en la siguiente tabla.

	R'	X	Y	NR ₂
XVa	CH ₃		-C=O(CH ₂)	
XVb	CH ₃		C=O(CH ₂)	
XVIa	CH ₃		-CH(OH)CH ₂	
XVIb	CH ₃		-CH(OH)CH ₂	
XVIIa	CH ₃		-C=O	
XVIIb	CH ₃		-C=O	
XVIIIa	CH ₃		CH ₂ CH(OH)CH ₂	
XVIIIb	CH ₃		CH ₂ CH(OH)CH ₂	
XIX	CH ₃		CH ₂ CH(OCOCH ₃)CH ₂	
XXa	CH ₃		CH ₂ CO	
XXb	CH ₃		CH ₂ CO	
XXIa	CH ₃		CH ₂ CH ₂ CO	
XXIb	CH ₃		CH ₂ CH ₂ CO	
XXIIa	CHF ₂		CH ₂ CH(OH)CH ₂	

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES para los compuestos XV-XXII

- 5 Los componentes básicos 4-(cloroacetil)morfolina, 4-(cloroacetil)-2,6-dimetilmorfolina, 4-(3-cloropropanoil)morfolina y 1-(cloroacetil)piperidin-4-ol ya se han publicado en la bibliografía, pero los presentes inventores los prepararon mediante un nuevo método aún no descrito, que también se usó para la síntesis de la 4-(3-cloropropanoil)-2,6-dimetil-morfolina aún no publicada, como se describe en el siguiente esquema 1:

Esquema 1

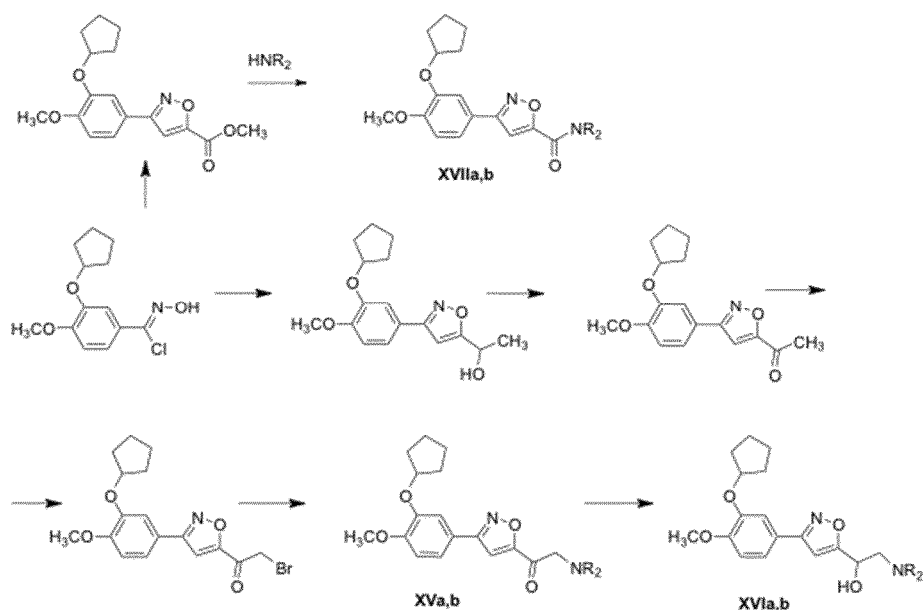


Los compuestos **XV**, **XVI** y **XVII** se prepararon mediante el procedimiento ya publicado en la bibliografía para compuestos similares [Kano H., Adachi I *et al. J. Med. Chem.*, 1967, 10, 411-418]. El isoxazol intermedio se obtuvo mediante una adición 1,3-dipolar de cloruro de 3-(ciclopentiloxi)-*N*-hidroxi-4-metoxibencenocarboximidoilo con 3-butin-2-ol. Después, el grupo de alcohol secundario se oxidó a cetona con una mezcla de anhídrido acético y dimetilsulfóxido, produciendo la 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanona que se bromó en la posición alfa al carbonilo. El derivado de bromo se trató con dos equivalentes de la cicloamina adecuada, obteniéndose las aminocetonas **XVa,b**, que se convirtieron de inmediato en sus clorhidratos correspondientes para evitar la descomposición. Los aminoalcoholes **XVla,b** se obtuvieron mediante la reducción de las correspondientes aminocetonas **XVa,b** con borohidruro de sodio y metóxido de sodio en metanol anhidro.

La ciclación del cloruro de 3-(ciclopentiloxi)-*N*-hidroxi-4-metoxibencenocarboximidoilo con éster de metilpropargilo dio el éster de isoxazol intermedio, que, a su vez, se trató con un exceso de la cicloamina adecuada, dando los compuestos **XVII**.

Todas las reacciones se presentan en el siguiente esquema 4:

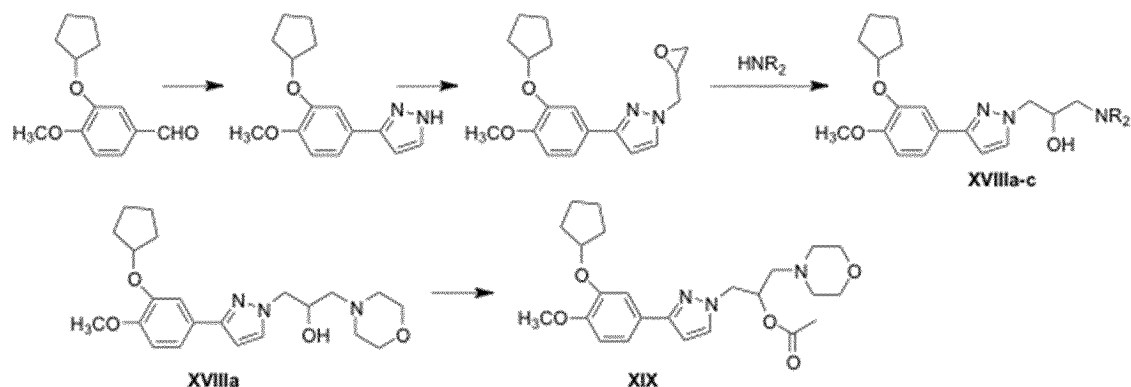
Esquema 4



Para la síntesis de los compuestos **XVIII-XXI**, en primer lugar, se preparó el compuesto de partida 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol mediante una cicloadición 1,3-dipolar a partir del 3-(ciclopentiloxi)-4-metoxibenzaldehído con hidrazida de *p*-toluenosulfonilo, NaOH y 1-vinilimidazol en acetonitrilo, como se presenta en el esquema 5. Esta técnica ya se publicó en la bibliografía para la preparación de pirazoles en un solo recipiente [Aggarwal, V.K. *et al., J. Org. Chem.* 2003, 68, 5381-5383].

El pirazol intermedio se trató con un exceso de epiclorhidrina en presencia de TEA, proporcionando el pirazol 1,3-disustituido en forma de un solo isómero. La estructura del derivado epoxídico se identificó mediante los datos espectrales de RMN de ^{13}C y de ^1H , como se presenta a continuación. La reacción entre el derivado epoxídico con un exceso de la cicloamina adecuada dio los compuestos **XVlla-c** con buenos rendimientos. El derivado de acetilo **XIX** se obtuvo a partir de **XVlla** con anhídrido acético, como se presenta en el esquema 5:

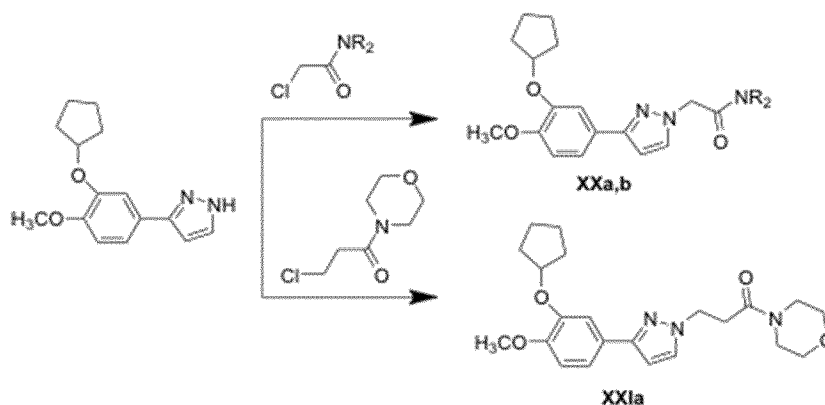
Esquema 5



- 5 El tratamiento del derivado de pirazol anterior con 4-(cloroacetil)morfolina o 4-(cloroacetil)-2,6-dimetilmorfolina en presencia de TEA proporcionó las 4-({3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}acetil)aminas **XXa,b**, como se presenta en el esquema 6.

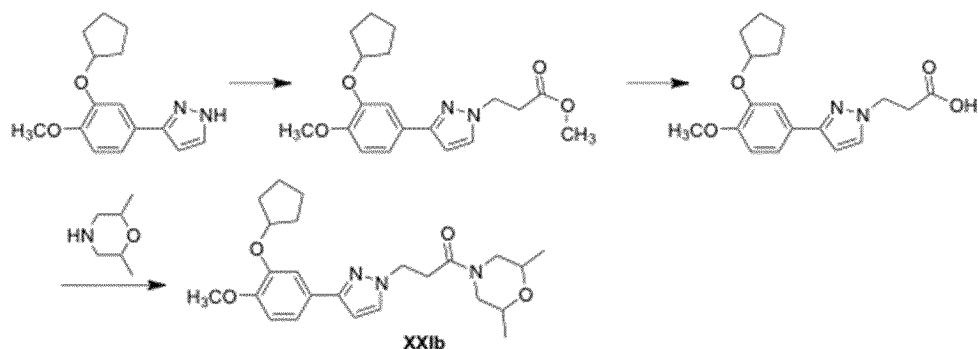
- 10 Se usó el mismo procedimiento para obtener la 4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}propanoil)morfolina **XXIa** a partir del derivado de pirazol anterior y 4-(3-cloropropanoil)morfolina como se presenta en el esquema 6.

Esquema 6



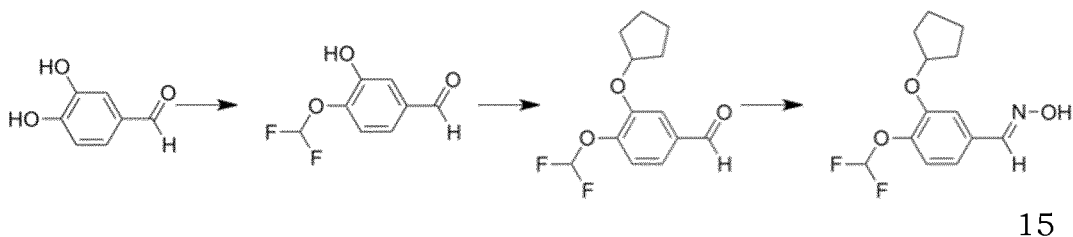
- 15 Para la obtención de la 4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}propanoil)2,6-dimetilmorfolina **XXIb**, se trató el derivado de pirazol con un exceso de 3-bromopropanoato de metilo, dando el 3-{3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-propanoato de metilo que luego se hidrolizó al correspondiente ácido; este último fue tratado con 2,6-dimetilmorfolina, en presencia de TEA y difenilfosforilazida, proporcionando el producto deseado como se presenta en el esquema 7.

Esquema 7



Para la obtención del compuesto **XXIIa,c**, se preparó el producto de partida 4-(difluorometoxi)-3-hidroxibenzaldehído mediante el uso de un nuevo procedimiento asistido por microondas con un mejor rendimiento en comparación con los numerosos procedimientos publicados en la bibliografía. El 3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)benzaldehído se obtuvo mediante el método de la bibliografía [A. Thomas *et al.*, Solicitud internacional PCT, 2004, WO 2004016596], así como la oxima de 3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)benzaldehído [Palle, Venkata P.*et al.*, Solicitud internacional PCT (2005), WO 2005051931] como se presenta en el esquema 8.

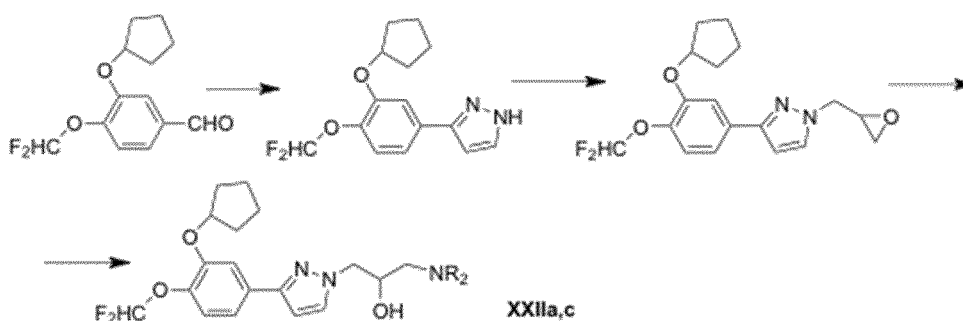
Esquema 8



Después, se preparó el 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol mediante una cicloadición 1,3-dipolar a partir del 3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)benzaldehído con hidrazida de *p*-toluenosulfonilo, NaOH y 1-vinilimidazol en acetonitrilo.

El pirazol intermedio se trató con un exceso de epíclorhidrina en presencia de TEA, proporcionando el pirazol 1,3-disustituido en forma de un solo isómero. La reacción entre el derivado epoxídico con un exceso de morfolina disuelta en DMF dio los compuestos **XXIIa**, mientras que el compuesto **XXIIc** se obtuvo tratando el derivado epoxídico con 4-hidroxipiperidina disuelta en DMF, como se presenta en el esquema 9.

Esquema 9

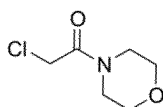


Descripciones detalladas

Síntesis de las cloroacetilaminas y cloropropanoilaminas intermedias

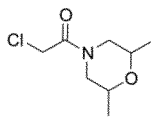
A una solución de la cicloamina (23 mmol) adecuada en tolueno an. (60 ml), se añadieron K₂CO₃ an. (6,3 g, 45 mmol) y cloruro de 2-cloroacetilo o cloruro de 3-cloropropanoilo (23 mmol); se calentó la mezcla a 60 °C durante 2 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se separaron los sólidos ((K₂CO₃ y KCl) por filtración y se concentró la solución a presión reducida, obteniéndose aceites en bruto que se purificaron por destilación a alto vacío, proporcionando compuestos puros finales en forma de aceites de color amarillo claro.

4-(Cloroacetil)morfolina



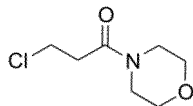
Rendimiento: 72 % (*lett.*: 17-100 %). P.e.: 110-120 °C/80 Pa (0,6 mmHg).

4-(Cloroacetil)-2,6-dimetililmorfolina



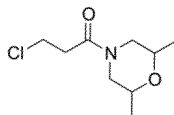
Rendimiento: 82 % (*lett.*: 48 %). P.e.: 110-120 °C/80 Pa (0,6 mmHg).

4-(3-Cloropropanoil)morfolina



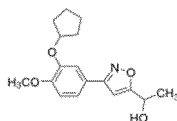
Rendimiento: 70 (*lett.*: 85 %). P.e.: 110 °C/80 Pa (0,6 mmHg).

4-(3-Cloropropanoil)-2,6-dimetilmorfolina



Rendimiento: 80 %. P.e.: 118 °C/80 Pa (0,6 mmHg).

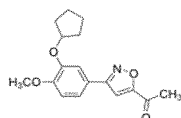
Síntesis de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanol



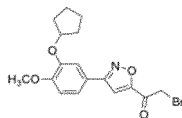
A una solución de cloruro de 3-(ciclopentiloxi)-*N*-hidroxi-4-metoxibencenocarboximidoilo (1,23 g, 4,56 mmol) en tolueno an. (5 ml) a 0-5 °C, se añadieron 3-butin-2-ol (0,36 ml, 4,56 mmol) y, posteriormente, trietilamina (0,95 ml, 6,84 mmol) gota a gota; después, se calentó la mezcla a 60 °C durante 18 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se filtró la mezcla, y el sólido obtenido se lavó con tolueno an. (3 x 10 ml); Se lavaron las fases orgánicas recogidas con agua (3 x 20 ml), se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna Florisil (malla 100-200) usando éter dietílico como eluyente. El producto en bruto cristalizó en forma de un sólido blanco mediante la adición de una mezcla de éter dietílico/éter de petróleo (punto de ebullición de 40-60 °C) (1:1).

Rendimiento: 60 %. P.f.: 72-73 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,62 (d, J = 6,6 Hz, 3H, CH₃), 1,75-2,10 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,02 (s, 1H, OH, desaparece con D₂O), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 4,75-4,91 (m, 1H, ciclopent. OCH), 4,95-5,11 (m, 1H, CH-OH), 6,44 (s, 1H, isox. CH), 6,88 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar H-5), 7,24 (dd, J = 8,2; 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,37 (d, J = 2,0 Hz, 1H, Ar H-2). IR (KBr) cm⁻¹: 3.398 (OH). Anal. (C₁₇H₂₁NO₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 67,31/67,37; H: 6,98/7,35; N: 4,62/4,65.

Síntesis de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanona



A 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanol (4,18 g, 13,78 mmol) en dimetilsulfóxido (21 ml), se añadió anhídrido acético (13,78 ml), y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Luego, se añadió agua (230 ml) y el sólido obtenido se filtró y se recrystalizó en etanol absoluto, produciendo un sólido blanco. Rendimiento: 80 %. P.f.: 121-122 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,42-2,10 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,63 (s, 3H, CH₃), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 4,75-4,94 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar H-5), 7,13 (s, 1H, isox. CH), 7,26 (dd, J = 8,2; 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,39 (d, J = 2,0 Hz, Ar H-2). IR (KBr) cm⁻¹: 1.696 (C=O). Anal. (C₁₇H₁₉NO₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 67,76/67,95; H: 6,36/6,34; N: 4,65/5,00.

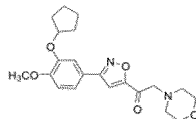
Síntesis de 2-bromo-1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanona

5 A una solución de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanona (0,56 g, 1,86 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml), se añadió ácido acético glacial (0,05 ml), y la mezcla de reacción se calentó a 50 °C. Después, se añadió gota a gota una solución de bromo (0,1 ml, 1,95 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 1 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se diluyó la suspensión con CH₂Cl₂ (20 ml), se lavó una vez con agua con hielo
10 (20 ml), luego con agua (2 x 20 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida, dando un sólido amarillo que se recristalizó en etanol absoluto, dando el producto final en forma de un sólido blanco.

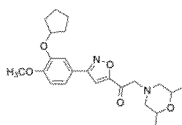
Rendimiento: 60 %. P.f.: 120-122 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,57-2,14 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 3,89 (s, 3H, OCH₃), 4,47 (s, 2H, CH₂Br), 4,78-4,93 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar H-5), 7,20-7,37 (m, 2H, Ar H-6 + isox. H), 7,41 (d, J = 1,8 Hz, Ar H-2). IR (KBr) cm⁻¹: 1698 (C=O). Anal. (C₁₇H₁₈BrNO₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 53,70/53,94; H: 4,77/5,10; N: 3,68/3,33.

Procedimiento general para las 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-cicloaminoetanonas XVa-b.

20 A una solución de 2-bromo-1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}etanona (0,54 g, 1,42 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml) enfriada a -10 °C (para el compuesto **XVa**) o a -30 °C (para el compuesto **XVb**), se añadió la cicloamina adecuada (2,91 mmol). Tras unos minutos, la reacción se completó, y se añadió de inmediato una solución saturada de HCl anhidro en éter dietílico a la mezcla de reacción, proporcionando las sales de clorhidrato de los compuestos
25 XV en forma de sólidos blancos.

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-morfolin-4-iletanona XVa.

30 Rendimiento: 72 %. P.f.: 175 °C (desc.). RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,60-2,20 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 3,60-3,80 (m, 4H, morf. 2CH₂-N), 4,07 (s, 3H, OCH₃), 4,20-4,50 (m, 4H, morf. 2CH₂O), 4,27 (s, 2H, CH₂-N), 4,95-5,10 (m, 1H, ciclopent. OCH), 7,08 (d, J = 2,0 Hz, 1H, Ar H-5), 7,35-7,52 (m, 3H, Ar H-2 + isox. H + NH⁺, 1H desaparece con D₂O), 7,55 (d, J = 2,0 Hz, 1H, Ar H-6). IR (KBr) cm⁻¹: 1710 (C=O). Anal. (C₂₁H₂₆N₂O₅HCl) C, H, N. (% calculado/descubierto) C:
35 59,64/59,63; H: 6,44/6,56; N: 6,62/6,69.

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)etanona XVb.

40 Rendimiento: 25 %. P.f.: 200 °C (desc.). RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,41 y 1,44 (2s, 6H, 2CH₃), 1,60-2,25 (2m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 3,05-3,22 y 3,65-3,87 (2m, 4H, morf. 2CH₂-N), 4,06 (s, 3H, OCH₃), 4,45-4,68 (m, 2H, morf. 2CHO), 4,88 (s, 2H, CH₂-N), 4,95-5,10 (m, 1H, ciclopent. OCH), 7,08 (d, J = 2,0 Hz, 1H, Ar H-5), 7,47 (d, J = 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,55 (s a, 1H, Ar H-2), 7,70 (s, 1H, isox. H). IR (KBr) cm⁻¹: 1.711 (C=O). Anal. (C₂₃H₃₀N₂O₅·HCl) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 60,99/61,08; H: 7,34/7,50; N: 6,18/6,20.

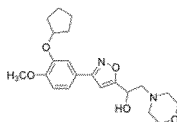
Procedimiento general para los 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-cicloaminoetanolos XVIa-b.

50 A una suspensión de clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-cicloaminoetanonas **XVa** o **XVb** (1,1 mmol) en metanol an., se añadió NaBH₄ (1,1 mmol, 41 mg) en porciones a temperatura ambiente; luego, se añadió una solución de CH₃ONa (60 mg, 1,1 mmol) en metanol an. (10 ml) gota a gota, y la mezcla se agitó a

temperatura ambiente durante 3-4 h. Entonces, se eliminó el metanol a presión reducida y se disolvió el producto en bruto en CH_2Cl_2 (20 ml), se lavó con agua (3 x 20 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida.

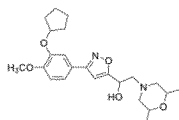
El derivado de morfolino **XVIa** se obtuvo en forma de un sólido amarillo que se lavó con éter dietílico caliente. El derivado de dimetilmorfolino **XVIb** se obtuvo en forma de un aceite que se purificó mediante cromatografía en columna Florisil (malla 100-200) eluyendo con éter dietílico. Los sólidos obtenidos se purificaron adicionalmente mediante TLC preparativa (gel de sílice) usando éter dietílico como eluyente, produciendo los productos puros finales en forma de sólidos blancos.

10 **1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-morfolin-4-iletanol XVIa**



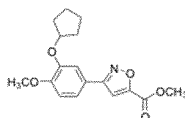
15 Rendimiento 65 %. P.f.: 136-137 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,70-2,30 (m, 8H, ciclopent. 4 CH_2), 2,55-2,75 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2,80-3,00 (m, 4H, morf. 2 $\text{CH}_2\text{-N}$), 3,85-4,10 (m, 5H, morf. 2 $\text{CH}_2\text{-O}$ + OH, 1 H desaparece con D_2O), 4,05 (s, 3H, OCH_3), 4,85-5,15 (2m, 2H, ciclopent. OCH + CH-OH), 6,71 (s, 1H, isox. H), 7,08 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,24 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, Ar H-6), 7,35 (s, 1H, Ar H-2) IR (KBr) cm^{-1} : 3.125 (OH). Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 64,93/65,10; H: 7,27/7,50; N: 7,21/7,39.

20 **1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)etanol XVIb.**



25 Rendimiento 30 %. P.f.: 92-94 °C. RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,30-1,42 (m, 6H, morf. 2 CH_3), 1,68-2,40 (m, 8H, ciclopent. 4 CH_2), 2,73-3,12 (m, 6H, morf. 2 CH_2 + morf. $\text{CH}_2\text{-N}$), 3,65-4,00 (m, 2H, morf. 2CH), 4,05 (s, 3H, OCH_3), 4,95-5,20 (2m, 2H, ciclopent. OCH + CH-OH), 7,05-7,13 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,43 (s, 1H, isox. CH), 7,46 (dd, $J = 1,6$; 0,4Hz, 1H, Ar H-6), 7,66 (d, $J = 0,4$ Hz, 1H, Ar H-2). IR (KBr) cm^{-1} : 3423 (OH). Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 66,32/66,16; H: 7,74/7,46; N: 6,73/6,74.

30 **Síntesis de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-carboxilato de metilo**

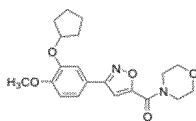


35 A una suspensión de cloruro de 3-(ciclopentiloxi)-N-hidroxi-4-metoxibencenocarboximidoilo (2,33 g, 8,64 mmol) y propiolato de metilo (0,73 g, 8,64 mmol, 0,71 ml) en tolueno an. (10 ml), se añadió una solución de trietilamina (0,87 g, 8,64 mmol, 1,16 ml) en tolueno an. (15 ml) gota a gota (30 min), y la mezcla se agitó a 60 °C durante 12 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se separó el residuo sólido por filtración y se lavó con tolueno an. Después, se secaron las fases orgánicas recogidas (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida, produciendo un aceite marrón claro que cristalizó tras la adición de una mezcla de éter dietílico/éter de petróleo (punto de ebullición de 40-60 °C) (1:1) y se mantuvo durante una noche en un refrigerador.

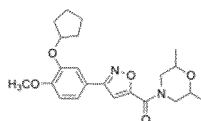
40 Rendimiento: 33 %. P.f.: 126-127 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,55-2,15 (m, 8H, ciclopent. 4 CH_2), 3,93 (s, 3H, Ar OCH_3), 4,02 (s, 3H, éster OCH_3), 4,82-4,96 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,96 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,23 (s, 1H, isox. H), 7,30 (dd, $J = 8,2$; 2,2 Hz, 1H, Ar H-6), 7,45 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, Ar H-2). IR (KBr) cm^{-1} : 1744 (C=O). Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 64,34; /64,18; H: 6,03/6,36; N: 4,41/4,56.

Procedimiento general para las 4-({3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)cicloaminas XVIIa-b.

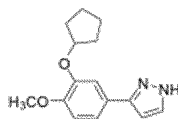
50 Se agitó una suspensión de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-carboxilato de metilo (0,96 g, 2,90 mmol) y un exceso de la cicloamina adecuada (41,6 mmol) durante 12 h a 60 °C. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se añadió agua (30 ml), y el producto cristalizó tras reposar durante una noche en un refrigerador. El sólido blanco obtenido se filtró y se recrystalizó en etanol.

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)morfolina XVIIa.

Rendimiento: 53 %. P.f.: 100-101 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,55-2,21 (m, 8H, ciclopent. 4CH_2), 3,92 (s, 3H, OCH_3), 3,65-3,97 (m, 8H, morf. 4CH_2), 4,80-4,92 (m, 1CH, ciclopent. OCH), 6,96 (d, $J = 8$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,09 (s, 1H, isox. H), 7,03-7,38 (dd, $J = 8,0$; 1,8 Hz, 1H, Ar H-6), 7,42 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, Ar H-2). IR (KBr) cm^{-1} : 1636 (C=O). Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 64,50/65,25; H: 6,50/6,87; N: 7,52/7,86.

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)-2,6-dimetilmorfolina XVIIb.

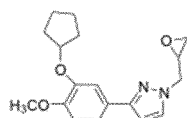
Rendimiento: 69 %. P.f.: 152-153 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,13-1,35 (m, 6H, morf. 2CH_3), 1,55-2,12 (m, 8H, ciclopent. 4CH_2), 2,45-2,70, 2,90-3,15, 3,50-3,80, 4,00-4,28 y 4,40-4,60 (5m, 6H, morf. $2\text{CH} + \text{morf. } 2\text{CH}_2\text{-N}$) 3,93 (s, 3H, OCH_3), 4,75-4,93 (m, 1 CH, ciclopent. OCH), 6,96 (d, $J = 11,4$ Hz, Ar H-5), 7,09 (s, 1H, isox. H), 7,31 (dd, $J = 11,4$; 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,44 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, Ar H-2). IR (KBr) cm^{-1} : 1633 (C=O). Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 65,98/65,96; H: 7,05/6,86; N: 7,00/7,34.

Síntesis de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol

Este compuesto ya ha sido publicado [Hopper, Allen *et al.* Solicitud internacional PCT, 2004094411, 4 de noviembre de 2004]. A continuación, los presentes inventores describen su método distinto de preparación.

A una solución de hidrazida de *p*-toluenosulfonilo (3,3 g, 17,74 mmol) en acetonitrilo an. (20 ml), se añadió 3-(ciclopentiloxi)-4-metoxibenzaldehído (3,90 g, 17,74 mmol) disuelto en acetonitrilo an. (10 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Entonces, se añadió solución de NaOH 5 N (3,55 ml, 17,75 mmol) y la mezcla, que adquirió un color rojo, se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Tras ello, se añadió lentamente 1-vinilimidazol (8,34 g, 88,77 mmol, 8,03 ml), y la mezcla se calentó a 50 °C durante 48 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se eliminó el disolvente a presión reducida y se disolvió el producto en bruto en acetato de etilo (20 ml); se lavó la fase orgánica con salmuera (2 x 20 ml), solución de HCl 1 N (20 ml) y agua (3 x 20 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida, proporcionando un aceite amarillo claro que cristalizó mediante la adición de metanol. El producto puro se obtiene en forma de un sólido amarillo claro.

Rendimiento: 65 %. P.f.: 80-82 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,49-2,19 (m, 8H, ciclopent. 4CH_2), 3,87 (s, 3H, OCH_3), 4,72-4,97 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,53 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, piraz. H-4), 6,84-7,38 (m, 3H, Ar 3H), 7,59 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, piraz. H-5). IR (KBr) cm^{-1} : 3.562 (NH). Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 69,74/69,74; H: 7,02/6,84; N: 10,84/10,73.

Síntesis de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1-(oxiran-2-ilmetil)-1H-pirazol

Se enfrió una mezcla de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol (0,77 g, 2,98 mmol) y epiclorhidrina (3 ml, 38,26 mmol) a 5 °C; entonces, se añadió gota a gota trietilamina (4,47 mmol, 0,62 ml), y se agitó la mezcla de reacción hasta que la temperatura alcanzó los 25 °C, luego se calentó a 70 °C durante 3 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua (100 ml), se extrajo la fase acuosa con CH_2Cl_2 (2 x 20 ml); se

lavó la fase orgánica con agua (20 ml) hasta que el pH de la solución de lavado se volvió neutro, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida, produciendo un aceite que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (malla 100-200) usando éter dietílico como eluyente. El compuesto deseado cristalizó reposando en un refrigerador tras la adición de éter dietílico.

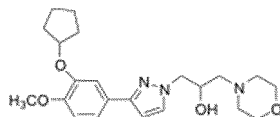
La reacción entre 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol y epiclorhidrina podría dar lugar a isómeros 1-5-disustituidos y/o 1-3-disustituidos. Según los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , el compuesto purificado resultó ser un solo isómero, y las asignaciones de C y H se realizaron basándose en experimentos de desacoplamiento de espín-espín, COSY, HSQC y HMBC. Además, una clara correlación de largo alcance $\delta_{\text{C}} = 131,4$ (pirazol de C-5)/ $\delta_{\text{H}} = 4,19$ y 4,48 (N- CH_2 -) en el espectro de HMBC mostró claramente una estructura de pirazol 1,3-disustituido para el compuesto sintetizado.

Rendimiento: 73 %. P.f.: 53-55 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,50-2,04 (m, 8H, ciclopent. 4 CH_2), 2,53 (dd, $J = 4,7$; 2,6 Hz, 1H, H_A de epox. CH_2), 2,85 (dd, $J = 4,7$; 4,3 Hz, 1H, H_B de epox. CH_2), 3,34-3,40 (m, 1H, epox. CHO), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 4,19 (dd, $J = 4,6$; 5,6 Hz, 1H, H_A de CH_2), 4,48 (dd, $J = 14,6$; 3,1 Hz, 1H, H_B de CH_2), 4,84-4,94 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,49 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, piraz. H-4), 6,88 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,29 (dd, $J = 8,3$; 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,36 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, Ar H-2), 7,46 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, piraz. H-5). RMN de ^{13}C (CDCl_3): 24,2 (ciclopent. 2 CH_2), 32,9 (ciclopent. 2 CH_2), 45,5 (ciclopent. epox. 2 CH_2), 50,8 (epox. CH), 53,8 (CH_2N), 56,1 (OCH_3), 80,5 (ciclopent. OCH), 103,0 (piraz. C-4), 112,0 (Ar C-5), 112,7 (Ar C-2), 118,3 (Ar C-6), 126,5 (Ar C-1), 131,4 (piraz. C-5), 147,8 (Ar C-3), 150,0 (Ar C-4), 151,8 (piraz. C-3). Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 68,77/68,58; H: 7,05/6,68; N: 8,91/8,84.

Procedimiento general para los 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il]-3-cicloaminopropan-2-oles XVI-IIa,b

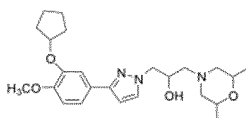
A 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1-(oxiran-2-ilmetil)-1*H*-pirazol (1 g, 3,15 mmol), se añadió un exceso de la amina adecuada (2 ml), y la mezcla se calentó a 50-60 °C durante 18 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con éter dietílico (20 ml), luego se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna Florisil (malla 100-200) usando éter dietílico como eluyente. Los compuestos deseados se obtuvieron en forma de aceites amarillos que luego se trataron con una solución de etanol saturada con HCl, proporcionando las sales de clorhidrato correspondientes en forma de sólidos blancos.

Diclorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il]-3-morfolin-4-il}propan-2-ol XVIIIa



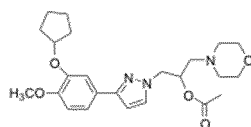
Rendimiento: 51 %. P.f.: 162-163 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,70-2,40 (m, 8H, ciclopent. 4 CH_2), 3,20-3,60, 3,74-4,00, 4,10-4,25 y 4,25-4,50 (4m, 10H, morf. 4 CH_2 + CH_2N), 4,05 (s, 3H, OCH_3), 4,80-5,35 (m, 5H, ciclopent. OCH + CH-OH + piraz. CH_2N + OH, 1H desaparece con D_2O), 6,85 (s a, 1H, piraz. H-4), 7,09 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,60 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar H-6), 7,75 (s, 1H, Ar H-2), 8,24 (s, 1H, piraz. H-5), 11,70-11,95 (s a, 1H, NH^+ desaparece con D_2O). Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 51,77/51,43; H: 7,31/6,86; N: 8,23/8,26.

Diclorhidrato de 1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il]-3-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)}propan-2-ol XVIIIb



Rendimiento: 61 %. P.f.: 188-189 °C. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,17-1,40 (m, 6H, 2 CH_3), 1,55-2,20 (m, 8H, ciclopent. 4 CH_2), 2,50-2,80 (m, 2H, morf. CH_2N), 3,00-3,40 (m, 2H, CH_2N), 3,45-3,80 (m, 3H, morf. CH_2N + morf. CHO), 3,80-4,00 (m, 4H, OCH_3 + morf. CHO), 4,20-4,55 (m, 2H, piraz. CH_2N), 4,80-5,20 (m, 3H, ciclopent. OCH + CH-OH + OH, 1H desaparece con D_2O), 6,72 (casi d, 1H, piraz. H-4), 6,96 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,48 (dd, $J = 8,4$; 2 Hz, 1H, Ar H-6), 7,61 (d, $J = 2$ Hz, 1H, Ar H-2), 8,18 (casi d, 1H, piraz. H-5), 11,55 (s a, 2H, 2 NH^+ , 2H desaparece con D_2O). Anal. ($\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 55,38/55,67; H: 7,55/7,46; N: 8,07/8,16.

Síntesis de 2-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il]-1-(morfolin-4-ilmetil)acetato de etilo XIX



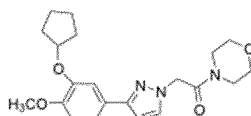
Se calentó una mezcla de 1-{3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}-3-morfolin-4-ilpropan-2-ol (0,60 g, 1,63 mmol) y acetato de sodio (0,2 g, 2,4 mmol) en anhídrido acético (5 ml) a 40-50 °C durante 5 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua (100 ml) y se extrajo con éter dietílico (3 x 10 ml), se lavó la fase orgánica con agua (3 x 20 ml) y salmuera (3 x 20 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró bajo presión reducida. El producto puro se obtuvo en forma de un aceite amarillo.

Rendimiento: 52 %. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,56-2,06 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,12 (s, 3H, CH₃), 2,61-2,92 (m, 6H, morf. 2CH₂N + CH₂N), 3,70-4,00 (m, 7H, OCH₃ + morf. 2CH₂O), 4,32-4,58 (m, 2H, piraz. CH₂N), 4,81-4,99 (m, 1H, ciclopent. OCH), 5,40-5,57 (m, 1H, CHOAc), 6,50 (d, J = 1,6 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,84-7,60 (m, 4H, H-6 + H-5 + Ar H-2 + piraz. H-5). Anal. (C₂₄H₃₃N₃O₅) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 64,99/64,93; H: 7,50/7,79; N: 9,47/9,10.

Procedimiento general para las 4-{3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}acetil)aminas XXa,b

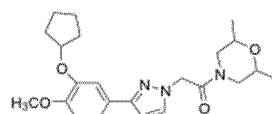
A una solución de 3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol (0,52 g, 2 mmol) en DMF an. (3 ml), se añadió la cloroacetilamina adecuada (15 mmol). Después, se añadió trietilamina (1 ml, 0,73 g, 7,19 mmol) gota a gota, y se calentó la mezcla a 100 °C durante 18 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua (100 ml) y se extrajo con éter dietílico (3 x 25 ml), se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El producto en bruto cristalizó mediante la adición de una mezcla de éter dietílico/éter de petróleo (punto de ebullición de 40-60 °C) (1:1), proporcionando los compuestos deseados en forma de sólidos blancos, que se recrystalizaron en etanol absoluto (XXa) o éter dietílico (XXb).

4-{3-[3-(Ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}acetil)morfolina XXa



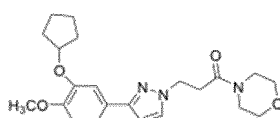
Rendimiento: 58 %. P.f.: 131-132 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,60-2,12 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 3,60-4,00 (m, 11H, OCH₃ + morf. 4CH₂), 4,83-5,10 (m, 3H, CH₂CO + ciclopent. OCH), 6,76 (d, J = 2,8 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,96 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar H-5), 7,47 (dd, J = 8,2; 1,6 Hz, 1H, Ar H-6), 7,68 (d, J = 1,6 Hz, 1H, Ar H-2), 7,84 (d, J = 2,8 Hz, 1H, piraz. H-5). IR (KBr) cm⁻¹: 1663 (C=O). Anal. (C₂₁H₂₇N₃O₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 65,44/65,60; H: 7,06/7,44; N: 10,90/10,81.

4-{3-[3-(Ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}acetil)-2,6-dimetilmorfolina XXb



Rendimiento: 53 %. P.f.: 99-100 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,10-1,28 (m, 6H, morf. 2CH₃), 1,52-2,06 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,18-2,52, 2,79-2,98 y 3,12-3,61 (3m, 4H, morf. CH₂), 3,65-3,80 (m, 1H, morf. CHO), 3,82-4,00 (m, 4H, OCH₃ + morf. CHO), 4,91 (s, 2H, CH₂CO), 5,00-5,19 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,55 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 1H, Ar H-5), 7,25-7,42 (m, 2H, H-6 + Ar H-2), 7,56 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-5). IR (KBr) cm⁻¹: 1665 (C=O). Anal. (C₂₃H₃₁N₃O₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 66,81/66,81; H: 7,56/7,85; N: 10,16/10,21.

Síntesis de 4-{3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol-1-il}propanoil)morfolina XXIa

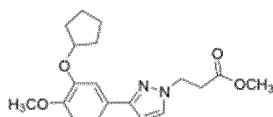


A una solución de 3-[3-(ciclopentiloxy)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol (0,77 g, 3 mmol) en DMF an. (5 ml), se añadió lentamente 4-(3-cloropropanoil)morfolina (3,20 g, 18 mmol) disuelta en DMF an. (6 ml) a 0 °C. Luego, se añadió trietilamina (0,80 g, 7,91 mmol, 1,1 ml) gota a gota y la mezcla se calentó a 120 °C durante 48 h. Tras enfriar hasta la

temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua (100 ml) y se extrajo con éter dietílico (3 x 25 ml), se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (malla 100-200) usando una elución en gradiente de éter dietílico solo a éter dietílico/metanol (1:1). El producto puro se obtuvo en forma de un aceite amarillo claro.

Rendimiento: 38 %. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,54-2,07 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,91-3,00 (m, 2H, CH₂CO), 3,32-3,67 (m, 8H, morf. 4CH₂), 3,89 (s, 3H, OCH₃), 4,52 (t, J = 6,4 Hz, 2H, CH₂N), 4,89-5,00 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,44 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,92 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar H-5), 7,22-7,40 (m, 2H, H-6 + Ar H-2), 7,49 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-5). IR (película) cm⁻¹: 1.654 (C=O). Anal. (C₂₂H₂₉N₃O₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 66,14/66,07; H: 7,32/7,04; N: 10,52/10,46.

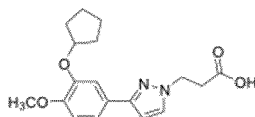
Síntesis de 3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-propanoato de metilo



A una solución de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol (0,6 g, 2,25 mmol) en acetonitrilo an. (15 ml), se añadieron metil-3-bromopropionato (1,91 g, 11,45 mmol) y trietilamina (1 ml, 0,73 g, 7,19 mmol) gota a gota a 0 °C; después, se calentó la mezcla a reflujo durante 48 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se eliminó el disolvente a presión reducida y se disolvió el producto en bruto en éter dietílico (30 ml), se lavó la fase orgánica con agua (3 x 20 ml), solución de NaOH 4N (2 x 20 ml) y salmuera (2 x 20 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El aceite obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (malla 100-200), usando éter dietílico como eluyente, proporcionando el producto puro en forma de un aceite amarillo claro.

Rendimiento: 67 %. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,50-2,18 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 3,00 (t, J = 6,0 Hz, 2H, CH₂CO), 3,73 (s, 3H, OCH₃), 3,90 (s, 3H, OCH₃-Ar), 4,49 (t, J = 6,0 Hz, 2H, CH₂N), 4,77-5,08 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,45 (d, J = 3,0 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,95 (d, J = 6,8 Hz, 1H, Ar H-5), 7,20-7,50 (m, 3H, H-6 + Ar H-2 + piraz. H-5). IR (CHCl₃) cm⁻¹: 1.735 (C=O). Anal. (C₁₉H₂₄N₂O₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 66,26/66,24; H: 7,02/7,33; N: 8,13/7,90.

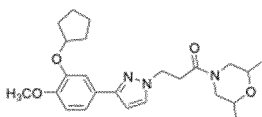
Síntesis de ácido 3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-propanoico



A una solución de 3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-propanoato de metilo (1 g, 3 mmol) en etanol al 96 % (3 ml), se añadió NaOH (0,2 g, 5,0 mmol), y la mezcla se calentó a 60 °C durante 4 h. Entonces, se eliminó el disolvente a presión reducida, se disolvió el producto en bruto en agua (20 ml) y se añadió lentamente una solución de HCl 1 N hasta que el pH se volvió = 1. El sólido amarillo claro obtenido se filtró, se lavó con agua y se recrystalizó en una mezcla de éter dietílico/diclorometano (1:1).

Rendimiento: 74 %. P.f.: 131-133 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,52-2,11 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 3,02-3,10 (m, 2H, CH₂), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 4,42-4,54 (m, 2H, piraz. CH₂N), 4,86-5,02 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,54 (d, J = 2,3 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,93 (d, J = 8,4 Hz, 1H, Ar H-5), 7,21-7,41 (m, 2H, H-6 + Ar H-2), 7,52 (d, J = 2,3 Hz, 1H, piraz. H-5). IR (CHCl₃) cm⁻¹: 1.721 (C=O), 3.515 (OH). Anal. (C₁₈H₂₂N₂O₄) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 65,44/65,62; H: 6,71/6,45; N: 8,48/8,48.

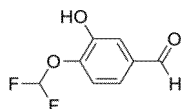
Síntesis de 4-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}propanoil)-2,6-dimetilmorfolina XXIb.



A una solución de ácido 3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-propanoico (0,67 g, 2 mmol) en DMF an. (5 ml), se añadieron trietilamina (0,30 g, 6 mmol, 0,4 ml), 2,6-dimetilmorfolina (0,50 ml, 4 mmol) y difenilfosforilazida (0,69 g, 2,5 mmol) a 0 °C. Entonces, se calentó la mezcla a 80 °C durante 15 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua (100 ml) y se extrajo con éter dietílico (3 x 25 ml), se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (malla 100-200) usando éter dietílico como eluyente, proporcionando el producto puro en forma de un aceite amarillo claro.

Rendimiento: 71 %. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,08 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H, morf. CH_3), 1,18 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H, morf. CH_3), 1,60-2,06 (m, 8H, ciclopent. 4CH_2), 2,23-2,39, 2,62-2,7, 2,82-3,19 y 3,23-3,70 (4m, 8H, morf. $2\text{CH}_2 + \text{CH}_2\text{CO} + \text{morf. } 2\text{CH}$), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 4,50-4,59 (m, 2H, piraz. CH_2N), 4,86-4,97 (m, 1H, ciclopent. CHO), 6,43 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, piraz. H-4), 6,93 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,33-7,41 (m, 2H, H-6 + Ar H-2), 7,48 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, piraz. H-5). IR (CHCl_3) cm^{-1} : 1671 ($\text{C}=\text{O}$). Anal. ($\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_4$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 67,42/67,15; H: 7,78/8,11; N: 9,83/9,84.

Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-hidroxibenzaldehído

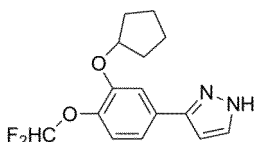


El 4-(difluorometoxi)-3-hidroxibenzaldehído se preparó con un mayor rendimiento mediante el siguiente procedimiento asistido por microondas.

A una solución de 3,4-dihidroxibenzaldehído (0,415 g, 3 mmol) en DMF an. (5 ml), se añadieron Cs_2CO_3 (0,975 g, 3 mmol) y clorodifluoroacetato de metilo (0,520 g, 3,6 mmol); luego, se irradió la mezcla con microondas, a presión, aumentando la potencia hasta 300 W en 2 minutos y enfriando con aire comprimido para evitar que la temperatura aumentara por encima de 90°C ; la irradiación se llevó a cabo durante 3 minutos más y luego se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente, con aire comprimido, en 1 minuto. El ciclo se repitió cinco veces durante un tiempo de reacción total de 30 minutos. Se vertió la mezcla en agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 ml); se lavó la fase orgánica con agua (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida, produciendo un aceite marrón que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (malla 100-200) eluyendo con una mezcla de acetato de etilo/exano (15:85). El producto puro se obtuvo en forma de un sólido gris claro.

Rendimiento: 57 % (lit.: 15-30 %). P.f.: $86-88^\circ\text{C}$. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 6,05 (s a, 1H, OH, 1H desaparece con D_2O), 6,65 (t, $J = 72,6$ Hz, OCHF_2), 7,26 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar H-5), 7,45 (dd, $J = 8,2$; 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,12 (d, $J = 2,0$ Hz, Ar H-2), 9,90 (s, 1H, $\text{CH}=\text{N}$). IR (KBr) (cm^{-1}): 1.687 ($\text{C}=\text{O}$), 3.305 (OH). Anal. ($\text{C}_8\text{H}_6\text{F}_2\text{O}_3$) C, H. (% calculado/descubierto) C: 51,07/50,96; H: 3,21/3,31.

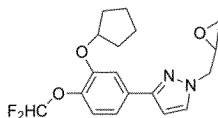
Síntesis de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1H-pirazol



A una solución de hidrazida de *p*-toluenosulfonilo (1,2 g, 6,45 mmol) en acetonitrilo an. (7 ml), se añadió 3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)benzaldehído (1,65 g, 6,45 mmol) disuelto en acetonitrilo an. (2 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Entonces, se añadió solución de NaOH 5 N (1,29 ml, 6,45 mmol) y la mezcla, que adquirió un color rojo, se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Tras ello, se añadió lentamente 1-vinilimidazol (3,04 g, 32,25 mmol, 2,92 ml), y la mezcla se calentó a 50°C durante 48 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se eliminó el disolvente a presión reducida y se disolvió el producto en bruto en acetato de etilo (10 ml); se lavó la fase orgánica con salmuera (2 x 10 ml), solución de HCl 1 N (10 ml) y agua (3 x 10 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida, proporcionando un aceite amarillo claro que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice usando CH_2Cl_2 como eluyente. El producto puro se obtiene en forma de un aceite amarillo claro.

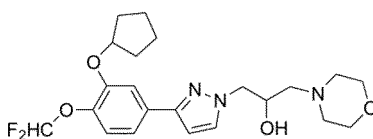
Rendimiento: 45 %. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,52-1,94 (m, 8H, ciclopent. 4CH_2), 4,80-5,00 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,55-7,70 (m, 7H, Ar 3H + piraz. H-5 + piraz. H-4 + OCHF_2 + piraz. NH). Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{F}_2$) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 61,22/61,32; H: 5,48/5,71; N: 9,52/9,59.

Síntesis de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1-(oxiran-2-ilmetil)-1H-pirazol



Se enfrió una mezcla de 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1*H*-pirazol (1,3 g, 4,42 mmol) y epíclorhidrina (4,5 ml, 57,77 mmol) a 5 °C; después, se añadió trietilamina (6,63 mmol, 0,92 ml) gota a gota, y se agitó la mezcla de reacción hasta que la temperatura alcanzó los 25 °C, luego se calentó a 70 °C durante 6 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua (100 ml), se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ (2 x 20 ml); se lavó la fase orgánica con agua (20 ml) hasta que el pH de la solución de lavado se volvió neutra, luego con salmuera (3 x 20 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida, produciendo un aceite que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (malla 100-200) usando éter dietílico como eluyente. El producto puro se obtiene en forma de un aceite amarillo claro. Rendimiento: 58 %. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,58-2,04 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,53-2,61 (m, 1H, H_A de epox. CH₂), 2,83-2,94 (m, 1H, H_B de epox. CH₂), 3,36-3,48 (m, 1H, epox. CHO), 4,13-4,28 y 4,52-4,65 (m, 2H, piraz. CH₂N), 4,93-5,03 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,56 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,58 (t, J = 75,6 Hz, 1H, OCHF₂), 7,19 (d, J = 8,0 Hz, 1H, Ar H-5), 7,29 (dd, J = 8,0; 2,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,48 (d, J = 2,0 Hz, 1H, Ar H-2), 7,53 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-5). Anal. (C₁₈H₂₀N₂O₃F₂) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 61,71/61,86; H: 5,75/5,99; N: 8,00/8,07.

1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-1-il}-3-morfolin-4-ilpropan-2-ol XXIIa



A 3-[3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1-(oxiran-2-ilmetil)-1*H*-pirazol (0,37 g, 1,06 mmol), se añadió un exceso de morfolina (1 ml), y se calentó la mezcla a 50-60 °C durante 18 h. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con éter dietílico (20 ml), luego se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando como primer eluyente éter dietílico, luego una mezcla de CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1, proporcionando un producto puro en forma de un aceite amarillo claro.

Rendimiento: 56 %. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,60-2,07 (m, 8H, ciclopent. 4CH₂), 2,44-2,84, 3,63-3,93 (2m, 10H, morf. 4CH₂ + CH₂N), 4,13-4,40 (m, 3H, piraz. CH₂N + CH-OH), 4,82-4,92 (m, 1H, ciclopent. OCH), 6,54 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-4), 6,58 (t, J = 75,6 Hz, 1H, OCHF₂), 7,18 (d, J = 8,0 Hz, 1H, Ar H-5), 7,28 (d, J = 8,0 Hz, 1H, Ar H-6), 7,44 (s, 1H, Ar H-2), 7,56 (d, J = 2,4 Hz, 1H, piraz. H-5). Anal. (C₂₂H₂₉N₃O₄F₂) C, H, N. (% calculado/descubierto) C: 60,40/60,40; H: 6,68/6,81; N: 9,61/9,24.

Métodos biológicos

Se evaluó la actividad de los compuestos de acuerdo con la presente invención siguiendo los métodos descritos en la bibliografía (O. Bruno *et al. J. Med Chem*, 2009; O. Bruno *et al Br. J. Pharmacol*, 2011).

A continuación, se ofrece un resumen de dichos métodos.

Inhibición de la enzima PDE4

La evaluación de los compuestos en ensayos de enzimas PDE4D3, PDE4A4, PDE4B2 y PDE4C2 fueron realizados por Scottish Biomedical (Glasgow, Escocia, Reino Unido) usando enzimas PDE humanas recombinantes expresadas en un sistema baculovírico. Los ensayos preliminares de detección se realizaron mediante la tecnología IMAP (Molecular Devices), que se basa en la unión de alta afinidad del fosfato por complejos de coordinación metálicos inmovilizados en nanopartículas. El reactivo de unión forma complejos con grupos fosfato en el nucleótido monofosfato generado a partir de nucleótidos cíclicos (AMPc) a través de fosfodiesterasas. Con la detección de la polarización de fluorescencia, la unión produce un cambio en la velocidad del movimiento molecular de la molécula portadora de fosfato y da lugar a un aumento en el valor de la polarización de la fluorescencia observado para el marcador fluorescente unido al sustrato. En todos los experimentos, Se probó el rolipram como compuesto de referencia a nueve concentraciones por duplicado, obteniéndose una curva de inhibición para validar este experimento. Todos los compuestos se disolvieron en DMSO a una concentración de 10⁻² M, y luego se diluyeron con agua hasta las concentraciones finales adecuadas. Todos los compuestos sintetizados se probaron preliminarmente sobre la PDE4D3 a una concentración de 10⁻⁵ M, por duplicado. Los resultados se expresan como un porcentaje de inhibición de la actividad de control (véase la tabla 1). Se considera que los resultados que muestran una inhibición del control superior al 50 % representan efectos significativos de los compuestos de prueba. El 50 % es el valor de corte más común para futuras investigaciones (determinación del valor de CI₅₀ a partir de las curvas de concentración-respuesta).

Los compuestos que muestran un control de la inhibición superior al 50 % sobre la PDE4D3 se probaron además en la misma isoforma enzimática a cinco concentraciones en el intervalo 10⁻⁸-10⁻⁴ M. Los valores de CI₅₀ para el rolipram y los compuestos probados se determinaron mediante análisis de regresión no lineal de su curva de

inhibición, usando el ajuste de curva de la ecuación de Hill (programa informático Graph Pad Prism). Los valores de CI_{50} obtenidos para los compuestos de referencia están dentro de los límites aceptados de las medias históricas obtenidas (0,5 unidades logarítmicas). Los valores de CI_{50} se presentan a una concentración μM en la tabla 1. Después, se han probado los compuestos más activos sobre PDE4A4, PDE4B2 y PDE4C2 (que son las más representativas de entre las numerosas variantes de corte y empalme de todas las isoformas de PDE4) para obtener más información sobre su selectividad por la isoforma. Los resultados se presentan (como el porcentaje de inhibición a una concentración de 10 μM) en la Tabla 1.

Evaluación genotóxica y citotóxica *in vitro*

Para evaluar el perfil tóxico preliminar de la molécula **XVIIIa**, los presentes inventores realizaron ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad en células neuronales humanas (HTLA). Para el potencial citotóxico, analizaron la liberación de lactato-deshidrogenasa en células expuestas durante 24 horas a altas concentraciones (100 μM) de **XVIIIa** o **GEBR-7b** (compuesto candidato - Bruno *et al*, *Br. J. Pharm.*, 2011, 164:2054).

Para evaluar el potencial genotóxico de **XVIIIa** y **GEBR-7b**, se analizó la fosforilación de la histona unida a la cromatina H2AX (γ -H2AX), que es un marcador cuantitativo de la respuesta al daño en el ADN en el sitio de roturas bicatenarias. Como control positivo, se usó etopósido, un inhibidor de la topoisomerasa II que induce roturas bicatenarias del ADN.

Potencial potenciador del AMPc *in vitro*

Para analizar la capacidad de **GEBR-7b** y **XVIIIa** de potenciar la acumulación intracelular de AMPc, se usó un inmunoensayo enzimático específico (EIA) para cuantificar los niveles de AMPc en células neuronales cultivadas expuestas a los inhibidores de PDE4D.

Potencial potenciador de AMPc *in vivo*

Se analizaron los efectos *in vivo* de **XVIIIa** sobre los niveles de AMPc extracelulares en el hipocampo de ratas que se mueven libremente mediante microdiálisis intracerebral.

Estudios electrofisiológicos

El compuesto **XVIIIa** se probó para determinar si la inhibición de PDE4D puede neutralizar el daño de la función sináptica tras la elevación de A β en ratones Tg2576.

Todos los experimentos se realizaron con la aprobación del Comité IACUC de la Universidad de Columbia. Los animales eran ratones transgénicos individuales de 12 meses de vida que expresaban la mutación APP humana (K670N, M671L) (también conocida como Tg2576), así como sus compañeros de camada de tipo silvestre.

Se realizaron registros de corte y empalme como se ha descrito anteriormente (Trinchese *et al*, *Ann Neurol* 2004). En resumen, se realizaron cortes de 400 μm con un picador de tejidos y se mantuvieron en una cámara de interfaz a 29 °C durante 90 minutos antes del registro. Se registraron fEPSP de CA1 colocando los electrodos tanto de estimulación como de registro en el estrato radiatum de CA1. La transmisión sináptica basal se ensayó representando gráficamente las tensiones de los estímulos frente a las pendientes de fEPSP. Para los experimentos de LTP, se registró una línea de referencia de 10 minutos cada minuto a una intensidad que genera una respuesta de aproximadamente el 35 % de la respuesta máxima generada. A la línea de referencia, le siguió una perfusión de 20 minutos con el compuesto antes de generar la LTP usando estimulación de ráfaga θ (4 pulsos a 100 Hz, repitiendo las ráfagas a 5 Hz, e incluyendo cada tétano 3 trenes de diez ráfagas separados por 15 segundos).

Resultados biológicos

Las pruebas llevadas a cabo en los compuestos de acuerdo con la presente invención proporcionaron los siguientes resultados.

Tabla 1. Actividad sobre diferentes isoformas de PDE4 expresada como el % de inhibición a una concentración de 10 μM y valores de CI_{50} (μM)

	% de inhib. de PDE4D1 a 10 μM	% de inhib. de PDE4D2 a 10 μM	% de inhib. de PDE4D3 a 10 μM (CI_{50} μM)	% de inhib. de PDE4A4 a 10 μM (CI_{50} μM)	% de inhib. de PDE4B2 a 10 μM (CI_{50} μM)	% de inhib. de PDE4C2 a 10 μM
XVa	nt	nt	39	nt	nt	nt
XVb	nt	nt	13	nt	nt	nt
XVIa	nt	nt	38	nt	nt	nt
XVIb	2	3	15	0	5	7

(continuación)

	% de inhib. de PDE4D1 a 10 μ M	% de inhib. de PDE4D2 a 10 μ M	% de inhib. de PDE4D3 a 10 μ M (CI ₅₀ μ M)	% de inhib. de PDE4A4 a 10 μ M (CI ₅₀ μ M)	% de inhib. de PDE4B2 a 10 μ M (CI ₅₀ μ M)	% de inhib. de PDE4C2 a 10 μ M
XVIIa	nt	nt	41	nt	nt	nt
XVIIb	nt	nt	35	nt	nt	nt
XVIIIa	34	28	68 (7,6)	22	18	11
XVIIIb	77	75	78 (6)	52 (0,12)	53,0 (0,46)	45
XIX	nt	nt	nt	nt	nt	nt
XXa	42	23	27	nt	nt	nt
XXb	18	13	23	nt	nt	nt
XXIa	nt	nt	42	nt	nt	10
XXIb	nt	nt	53 (1,8)	28	28	42
XXIIa	nt	nt	64 (2,43)	11	26	nt

Los resultados de la prueba de la lactato-deshidrogenasa indican claramente que, al menos en las condiciones probadas, ninguno de entre **XVIIIa**, **XXIIa** y **GEBR-7b** (el presente compuesto candidato usado como compuesto de referencia) ejerció efectos citotóxicos, como se presenta en la tabla 2.

Tabla 2.

Compuesto probado	% de citotoxicidad
Control positivo	100 $\pm$ 8,0
XVIIIa	3,3 $\pm$ 0,4
XXIIa	0,1 $\pm$ 0,36
GEBR-7b	0,7 $\pm$ 0,09

En cuanto a la genotoxicidad, el tratamiento con etopósido de las células HTLA provocó un daño rápido y fuerte del ADN, que no se observó al exponer las células a **XVIIIa**, **XXIIa** o **GEBR-7b**, como se muestra en la Figura 1, que es un análisis de transferencia Western de γ -H2AX en células HTLA tratadas durante los períodos de tiempo indicados con etopósido 100 μ M, **GEBR-7b**, **XVIIIa**, **XXIIa** o un volumen igual de disolvente (DMSO). La señal de H2AX representa el control de carga interno. La figura es representativa de tres experimentos independientes, mostrando todos ellos resultados esencialmente similares.

Además, **GEBR-7b**, **XVIIIa** y **XXIIa** aumentaron significativamente (inducción de 2, 3 y 4,5 veces, respectivamente) la acumulación de AMPc inducida por forskolina (FSK), sin afectar a los niveles basales de AMPc, tal como se indica en la Figura 2, que representa una cuantificación del AMPc intracelular realizada mediante un inmunoensayo enzimático específico (EIA). Se trataron previamente células neuronales cultivadas durante 10 minutos con **XVIIIa** (100 μ M), **XXIIa** (100 μ M), **GEBR-7b** (100 μ M) o un volumen igual de DMSO. Después, se añadió forskolina 1 μ M (FSK), cuando se indica, durante 20 min. Al final de los períodos de incubación, se midió el AMPc intracelular con un kit de EIA específico del AMPc, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El histograma muestra la media $\pm$ DT para tres experimentos independientes.

La administración local de **XVIIIa** 30 μ M mediante diálisis inversa causó un ligero, aunque no significativo, aumento del AMPc extracelular del hipocampo. Sin embargo, cuando se infundió el inhibidor de PDE4D a una concentración de 100 μ M, se pudo observar una notable respuesta del AMPc (40-80 % frente a los valores basales) como se muestra en la Figura 3. Los efectos de **XVIIIa** fueron similares a los publicados previamente para el inhibidor de PDE4D **GEBR-7b** (compuesto candidato; datos tomados de Bruno *et al.*, *Br. J. Pharmacol.* 2011, 164, 2054-2063).

La Figura 3 muestra los efectos de los inhibidores de PDE4D sobre el AMPc extracelular en el hipocampo de ratas que se mueven libremente. Se administraron **XVIIIa** o **GEBR-7b** a través de la sonda tras recogerse 3 muestras de control consecutivas, y estuvieron presentes en el fluido de infusión durante el tiempo indicado por la barra hueca horizontal. Los datos se expresan como porcentajes del valor basal medio (definido como el 100 %) que se determinó promediando el contenido de AMPc en las tres fracciones recogidas antes del tratamiento farmacológico. Cada punto representa la media $\pm$ ETM para 3-6 experimentos diferentes.

En el estudio electrofisiológico en ratones Tg2576, los presentes inventores confirmaron que los cortes de hipocampo de estos animales muestran un deterioro de la potenciación a largo plazo (LTP) de CA3-CA1 a los 12 meses de vida cuando hay placas presentes (Trinchese F. *et al.*, *Ann. Neurol.* 2004, 55, 801). Lo que es más importante, descubrieron que **XVIIIa** (2 μ M, administrado a través de la solución de baño durante 20 minutos antes de inducir la LTP a través de la estimulación de ráfagas theta) rescató el defecto en la LTP de cortes de hipocampo

de ratones Tg de 12 meses (ANOVA de dos vías: $p < 0,05$ comparando los cortes de Tg tratados con compuesto frente a los cortes de Tg tratados con vehículo) sin afectar a la LTP en los compañeros de camada de tipo silvestre como se presenta en las Figuras 4 y 5 (la Fig. 5 es un diagrama acumulativo en donde se presentan juntas las cuatro curvas de la Fig. 4, aunque se omiten, por el bien de la claridad, los intervalos de confianza de la DT).

Los resultados de un experimento de dosis-respuesta de OLT, que es una variante espacial de la ORT (prueba de reconocimiento de objetos) previamente evaluada por uno de los solicitantes (Rutten *et al.*, *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34:1914), con **XXIIa** se resumen en la Tabla 3 y la Figura 6. Un ANOVA de una vía no reveló diferencias significativas entre las condiciones de tratamiento en el nivel de exploración en T1 (e1: $F_{4,109} = 1,038$ n.s.). Para T2, se encontró una diferencia significativa (e2: $F_{4,109} = 5,120$; $p = 0,001$) y las pruebas post-hoc de Bonferroni mostraron una diferencia entre 0,003 mg/kg y el vehículo/0,0003 mg/kg de **XXIIa**. Lo que implica que la dosis activa mostró un comportamiento de exploración significativamente mayor que el vehículo y la dosis más baja.

Tabla 3 - Valores medios ($\pm$ ETM) de las diferentes medidas de la OLT

Dosis	e1 (s)	e2 (s)	d2	N
vehículo	31,90 (2,58)	21,45 (1,62)	0,01 (0,03)	23
0,0003 mg/kg	28,51 (3,13)	25,91 (2,73)	0,02 (0,05)	22
0,001 mg/kg	33,78 (2,82)	29,07 (2,30)	0,06 (0,05)	24
0,003 mg/kg	37,85 (4,62)	35,82 (2,82)	0,34 (0,05) ###	23
0,01 mg/kg	34,24 (3,12)	30,32 (2,14)	0,05 (0,03)	22

Se muestran la exploración media en T1 (e1) y T2 (e2), y el rendimiento de discriminación (d2) de las diferentes condiciones de tratamiento en el estudio de dosis-respuesta de **XXIIa**. El error típico de la media (ETM) se presenta entre paréntesis. Se realizaron pruebas t de una muestra sobre las medidas de d2. Una diferencia significativa con respecto al cero (indicada por signos de almohadilla; ###: $p < 0,001$) indica que los animales recordaron la ubicación del objeto de T1.

La prueba t de una muestra que compara el índice d2 de cada condición con el cero mostró que el vehículo, **XXIIa** a 0,0003, 0,001 y 0,01 mg/kg no difirieron significativamente de cero, lo que implica que no se reconoce el objeto movido tras un intervalo de 24 h. **XXIIa** a 0,003 mg/kg mostró una diferencia significativa en comparación con el cero ($p < 0,0001$). Un ANOVA de una vía que compara el índice d2 de la condición fue significativo ($F_{4,109} = 9,345$; $p < 0,001$) y la prueba t de Dunnett que compara las condiciones con el vehículo mostró que solo **XXIIa** a 0,003 mg/kg difiere significativamente del vehículo ($p < 0,001$). Estos datos indicaron que **XXIIa** fue capaz de potenciar totalmente la función de la memoria a una dosis de 0,003 mg/kg, mientras que los animales tratados con 0,0003, 0,001 y 0,01 mg/kg no mostraron ninguna mejora en la memoria, es decir, ninguna diferencia con respecto al cero o al vehículo. Los efectos de las diferentes dosis de **XXIIa** en el rendimiento de la memoria espacial de los objetos se presentan gráficamente en la Figura 6.

Los resultados de la prueba de memoria de trabajo espacial, evaluada usando la tarea de alternancia espontánea del laberinto en Y como se ha descrito anteriormente (Sierksma A.S., *Neurobiol. Aging*, 2013, 34: 319) sobre **XXIIa** se resumen en la Tabla 4. La función de la memoria de trabajo viene dada por el porcentaje de alternancias realizadas mientras se explora el laberinto en Y durante 6 min. No se excluyeron animales del análisis estadístico.

Tabla 4 - Alternancias medias (+ ETM) en la tarea de alternancia continua del laberinto en Y

Condición	% de alternancias	ETM	n
Vehículo	60,36 ###	2,03	16
0,001 mg/kg	60,86 ###	2,12	16
0,003 mg/kg	63,54 ###	1,53	16
0,01 mg/kg	61,88 ###	1,83	16

Se muestran el porcentaje medio de alternancias y sus ETM de cada condición en la tarea de alternancia del laberinto en Y. Se realizaron pruebas t de una muestra comparando el porcentaje de alternancias con el nivel de probabilidad (50 %), una diferencia significativa del 50 % (indicada por los signos de almohadilla; ###: $p < 0,001$) indica que los animales tienen una memoria de trabajo funcional.

Se realizaron pruebas t de una muestra para comparar cada condición con las alternancias del 50 %, es decir, el nivel de probabilidad. Todas las condiciones, incluyendo el vehículo, mostraron una diferencia significativa del 50 % (todos los $p < 0,001$), lo que indica una memoria de trabajo espacial que funciona bien. Una ANOVA de una vía que compara las condiciones entre sí no arrojó resultados significativos ($F_{3,60} = 0,551$; n.s.). La Figura 7 ofrece una descripción gráfica del rendimiento de alternancia del laberinto en Y.

Se usó la prueba de la anestesia mediada por el adrenoceptor α_2 inducida por ketamina/xilacina, una medida sustituta bien establecida de la emesis en roedores, que son especies que no vomitan (Robichaud *et al. J. Clin. Invest.*, 2002, 110: 1045), para medir las propiedades eméticas de **XXIIa** como se resume en la tabla 5. Un tiempo de anestesia más corto que el de la condición del vehículo implicaría efectos eméticos. El tiempo de anestesia se calculó en relación con la condición del vehículo, que se estableció en el 100 %, para controlar la exposición repetida a la prueba. Se analizaron concentraciones de **XXIIa** de hasta mil veces la dosis eficaz.

Tabla 5 - Tiempos medios de anestesia (+ETM) de la prueba de la emesis

Condición	Tiempo anestesiado	ETM	n
Vehículo	100,0	7,69	11
0,003 mg/kg	112,28	10,24	12
0,03 mg/kg	109,52	6,42	12
0,3 mg/kg	107,45	7,86	11
3,0 mg/kg	91,22	8,79	10

Se muestran los tiempos medios en los que los ratones permanecieron anestesiados (y sus ETM) durante cada condición en relación con el vehículo (establecido como el 100 %), medidos durante la prueba de anestesia con ketamina/xilazina.

Excepto con la mayor concentración, los animales tratados con **XXIIa** permanecieron anestesiados más tiempo que la condición del vehículo. Un ANOVA de una vía que compara todas las condiciones no mostró ningún efecto significativo ($F_{4,51} = 1,003$; n.s.), lo que implica que **XXIIa** no tiene efectos eméticos. En la Figura 8, se ofrece una descripción gráfica de los resultados de la prueba de anestesia con ketamina/xilazina.

Estudios farmacocinéticos

Se ha llevado a cabo un análisis farmacocinético para los compuestos **XVIIIa**, **XXIIa** y **GEBR-7b** por parte del Centro de Investigación del Metabolismo y de la Farmacocinética de los Fármacos, Shanghai Institute of Materia Medica (Zhangjiang Hi-Tech Park, Pudong, Shanghai, China).

En resumen, se usó un total de 21 ratones BALB/c macho para cada fármaco y tres ratones para cada punto de tiempo. Se disolvieron los fármacos en DMSO, se diluyeron en metilcelulosa al 0,5 %, produciendo una concentración final de 1 mg/ml y se administraron por vía subcutánea a la dosis de 10 mg/kg. Se recogieron muestras de sangre (aproximadamente 250 μ l) mediante punción retroorbital a los 10 min, 20 min, 40 min, 1 h, 2 h, 3 h y 5 h después de la inyección. Se separó el plasma por centrifugación (11.000 rpm, 5 min, 4 °C) y se almacenó a -70 °C antes del análisis. Tras la recogida de la sangre, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, y se extirparon los cerebros, se pesaron, se aclararon con solución salina fría y luego se congelaron a -70 °C hasta su análisis.

Para los análisis de sangre, se añadieron alícuotas de plasma (25 μ l) con metanol (25 μ l) y con patrón interno (25 μ l de 500 ng/ml de lapatinib para **GEBR-7b** y **XVIIIa**, 500 ng/ml de voriconazol para **XXIIa**), seguidas de la adición de 100 μ l de metanol.

En cuanto a los cerebros, se añadieron 100 mg de tejido con 500 μ l de metanol y se homogeneizaron durante aproximadamente 1 min. Las muestras homogeneizadas se sometieron a ultrasonidos durante 10 min y se centrifugaron a 11.000 rpm durante 5 min. Se añadió una alícuota de las muestras homogeneizadas (50 μ l para **GEBR-7b** y **XVIIIa**, 25 μ l para **XXIIa**) con patrón interno (20 μ l de lapatinib a 500 ng/ml para **GEBR-7b** y **XVIIIa**, 25 μ l de voriconazol a 500 ng/ml para **XXIIa**)

Tras la centrifugación a 11.000 rpm durante 5 min, se inyectó una alícuota de plasma (10 μ l para **GEBR-7b** y **XVIIIa**, 5 μ l para **XXIIa**) o una alícuota de tejido cerebral (20 μ l para **GEBR-7b** y **XVIIIa**, 5 μ l para **XXIIa**) de la capa superior en el sistema de LC/MS/MS que consistía en un sistema de HPLC LC-20A de Shimadzu (Shiseido, Tokio, Japón) conectado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo TSQ Quantum Vantage dotado de una fuente HESI (ThermoFisher, San Jose, CA, EE.UU.). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: columna de protección C₁₈ SecurityGuard (D.I. de 4 mm x 3,0 mm, 5 μ m, Phenomenex, Torrance, CA, EE.UU.), columna analítica C₁₈ SB (D.I. de 150 mm x 4,6 mm, 5 μ m, Agilent, América), tampones de ácido fórmico al 0,1 % en acetato de amonio 10 mM: ácido fórmico al 0,1 % en metanol (10:90), caudal de 0,6 ml/min. Las condiciones de espectrometría de masas fueron las siguientes: fuente HESI; modo de barrido SRM; polaridad positiva; temperatura del vaporizador de 420 °C; presión de gas de barrido de iones de 100 kPa (1 bar); presión de gas auxiliar 500 kPa (5 bar); temperatura capilar de 320 °C.

Las curvas de calibración se prepararon en plasma de ratón en blanco heparinizado (1-10.000 ng/ml) o en homogeneizado cerebral en blanco (1-10.000 ng/g) usando los mismos patrones internos de antes.

- 5 Los parámetros farmacocinéticos, calculados mediante análisis no compartimental usando Phoenix 1.3 (Pharsight, EE.UU.) fueron los siguientes: $T_{\text{máx}}$, el tiempo correspondiente a $C_{\text{máx}}$; $C_{\text{máx}}$, la concentración en suero o cerebral máxima observada; $t_{1/2}$, la semivida de eliminación, calculada como $0,693/\lambda_z$, que se obtuvo mediante regresión logarítmica lineal usando los puntos terminales de la curva de concentración en suero o cerebral-tiempo; AUC_{0-t} , el área bajo la curva de la concentración en suero o cerebral desde el tiempo 0 hasta la última concentración medible, calculada usando la regla trapezoidal lineal. Las proporciones de la AUC_{0-t} cerebral con respecto al plasma representan un índice de penetración a través de la barrera hematoencefálica. Todos los datos han sido presentados en la Tabla 6. Como se muestra claramente, hay un aumento significativo de la penetración cerebral desde **GEBR-7b** al compuesto **XXIIa**.
- 10

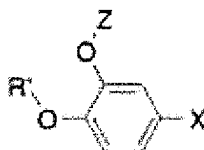
Tabla 6

15

Compuestos	GEBR-7b		XVIIIa		XXIIa	
Parámetros	Plasma	Cerebr o	Plasma	Cerebr o	Plasma	Cerebr o
$T_{\text{máx}}$ (h)	0,17	0,17	0,17	0,17	0,33	0,33
$C_{\text{máx}}$ (ng/ml o g)	4406	1567	2157	936	993	2608
$t_{1/2}$ (h)	0,70	1,36	0,82	0,54	0,95	0,95
AUC_{0-t} (ng·h/ml o g)	1225	391	1893	812	861	2330
Proporción de AUC_{0-t} (Cerebro/Plasma)	0,32		0,75		2,71	

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),



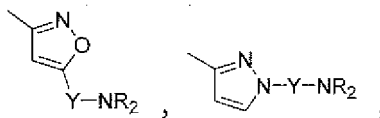
(I)

en donde:

Z = ciclopentilo;

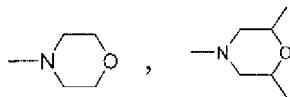
R' = -CH₃, CHF₂,

X =



Y = -CO; -C=O(CH₂), -CH(OH)-CH₂, -CH₂-C=O, -CH₂-CH₂-C=O; -CH₂-CH(OH)-CH₂, -CH₂-CH(OCOR₁)-CH₂;

NR₂ =



R₁ = alquilo C₁-C₃, preferentemente, CH₃;

y enantiómeros, diastereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la siguiente fórmula:

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-morfolin-4-iletanona

Clorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)etanona

1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-morfolin-4-iletanol

1-{3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}-2-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)etanol

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)morfolina

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]isoxazol-5-il}carbonil)-2,6-dimetilmorfolina

Diclorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-3-morfolin-4-ilpropan-2-ol

Diclorhidrato de 1-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-3-(2,6-dimetilmorfolin-4-il)propan-2-ol

Acetato de 2-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}-1-(morfolin-4-ilmetil)etilo

4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}acetil)morfolina

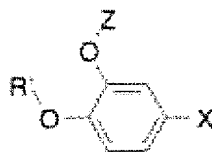
4-({3-[3-(Ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}acetil)-2,6-dimetilmorfolina

4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}propanoil)morfolina

4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-1H-pirazol-1-il}propanoil)-2,6-dimetilmorfolina

4-(3-{3-[3-(ciclopentiloxi)-4-(difluorometoxi)fenil]-1H-pirazol-1-il}propanoil)morfolina.

3. Un compuesto de fórmula (I),



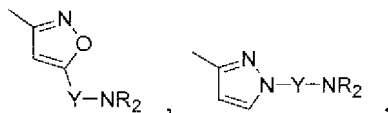
(I)

en donde:

Z = ciclopentilo;

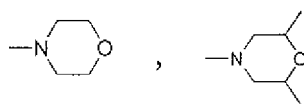
R' = -CH₃, CHF₂,

X =



Y = -CO; -C=O(CH₂), -CH(OH)-CH₂, -CH₂-C=O, -CH₂-CH₂-C=O; -CH₂-CH(OH)-CH₂, -CH₂-CH(OCOR₁)-CH₂;

NR₂ =



R₁ = alquilo C₁-C₃, preferentemente, CH₃;

y enantiómeros, diastereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para su uso como un medicamento.

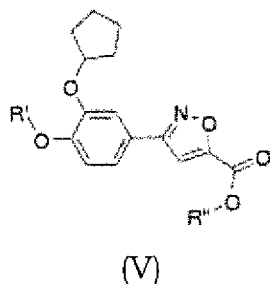
4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y enantiómeros, diastereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para su uso como un medicamento con actividad inhibidora de PDE4D, preferentemente, para tratar la demencia, en particular, la enfermedad de Alzheimer, o para mejorar la memoria.

5. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Un proceso de preparación de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en los

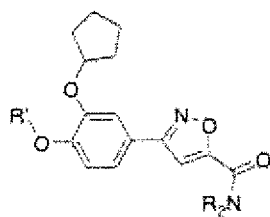
que X= , Y = -C=O, y

Z, R', NR₂ y R₁ son como se definen en la reivindicación 1, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (V)



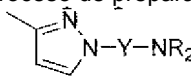
en donde R'' es alquilo C₁-C₄,

con R₂NH, en donde NR₂ es como se define en la reivindicación 1, para producir el siguiente compuesto de fórmula (Ic)

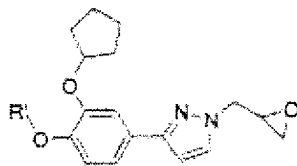


(Ic)

7. Un proceso de preparación de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en los

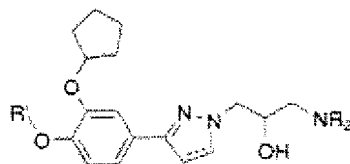
que X= , Y = -CH₂-CH(OH)-CH₂-, y

Z, R', NR₂ y R₁ son como se definen en la reivindicación 1, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (VI)



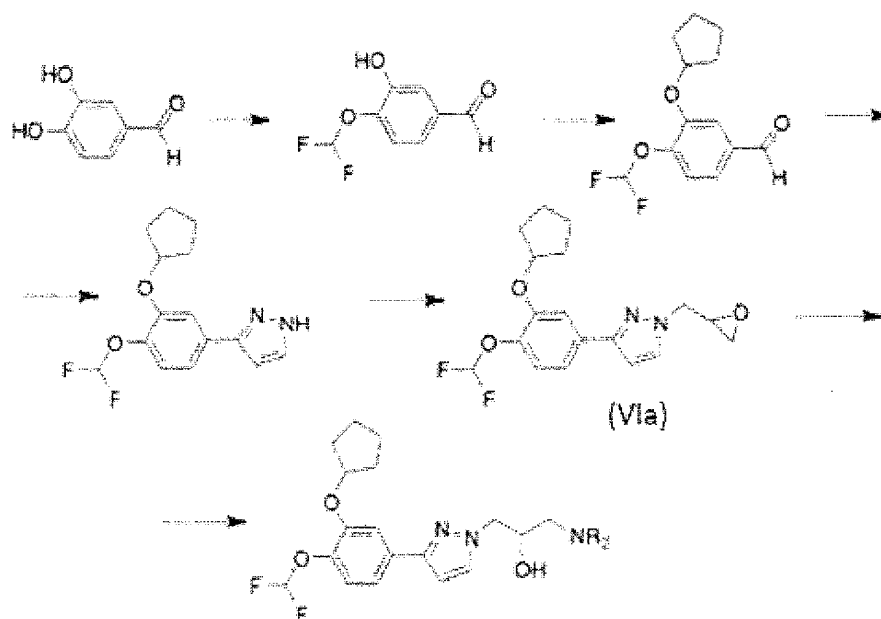
(VI)

con R₂NH, en donde NR₂ es como se define en la reivindicación 1, para producir el siguiente compuesto de fórmula (Id)



(Id)

8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que R' es -CHF₂ y el compuesto intermedio relevante de fórmula (VIa) se prepara de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



en donde la primera etapa de conversión de 3,4-dihidroxi-benzaldehído en 4-(difluorometoxi)-hidroxi-benzaldehído implica la reacción de 3,4-dihidroxi-benzaldehído con un éster de ácido clorodifluoroacético, preferentemente, clorodifluoroacetato de metilo en presencia de Cs₂CO₃ bajo irradiación con microondas a una potencia inferior o igual a 300 W.

5

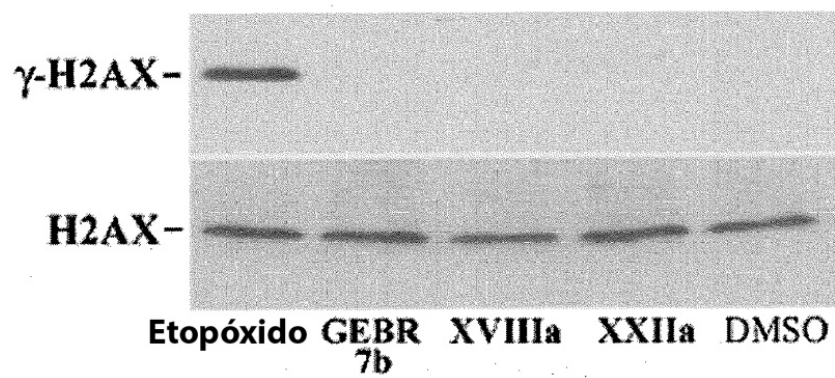


Fig. 1

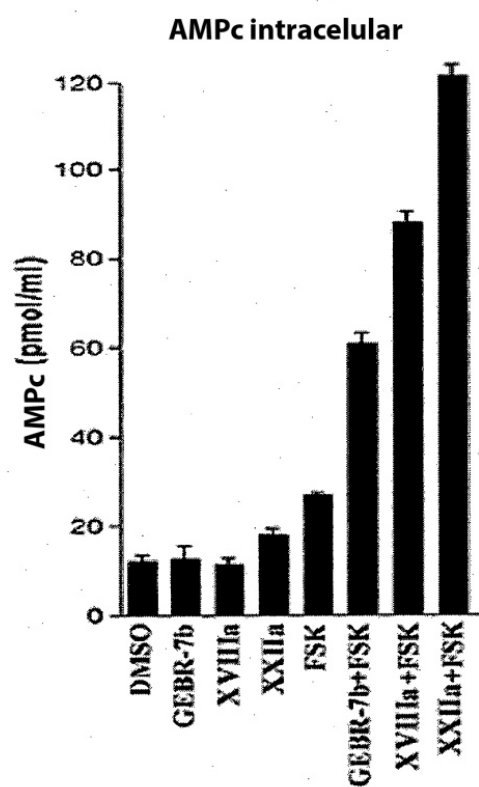


Fig. 2

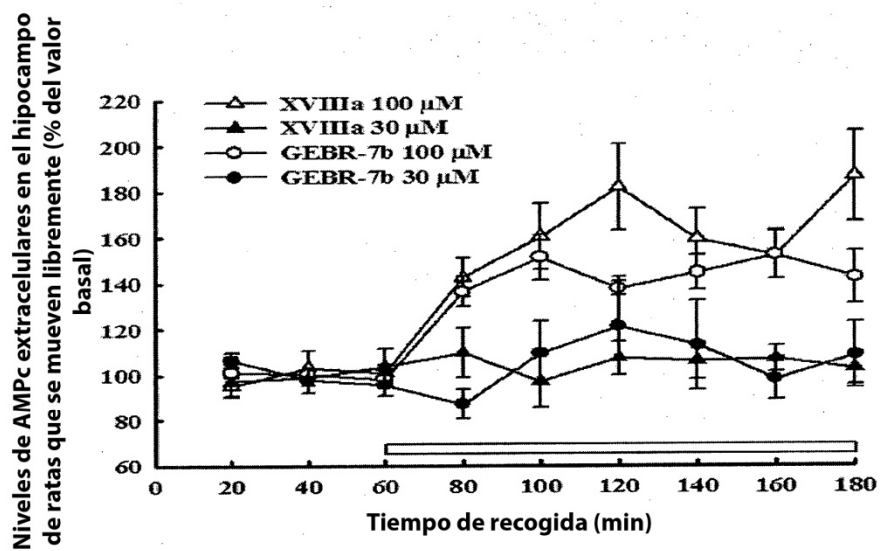


Fig. 3

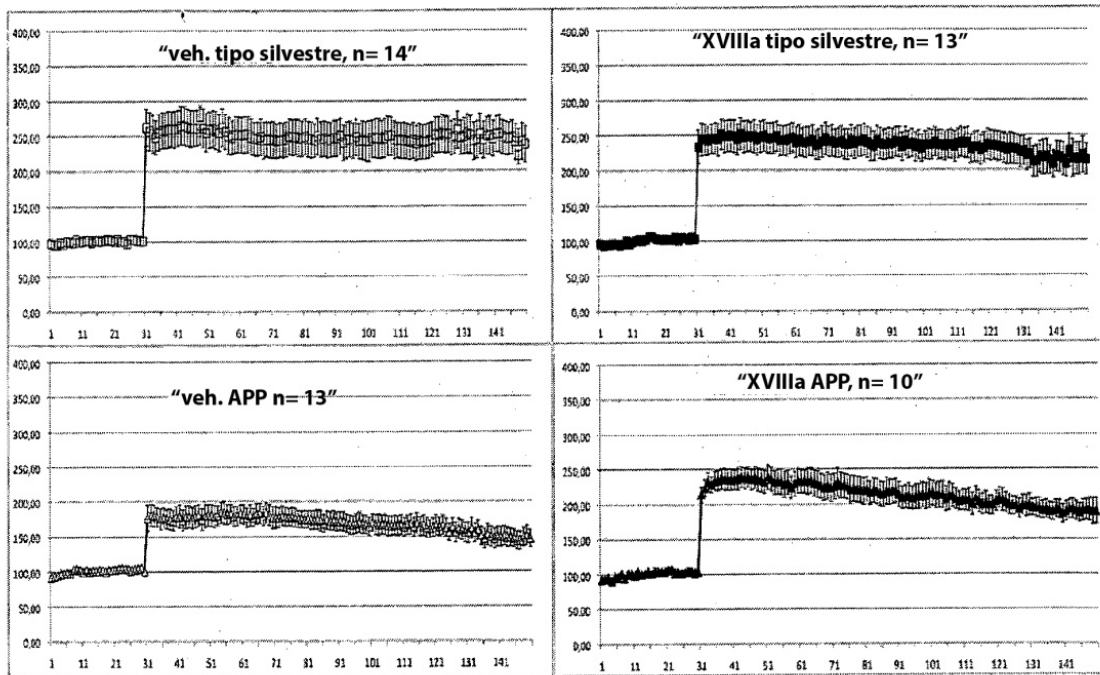


Fig. 4

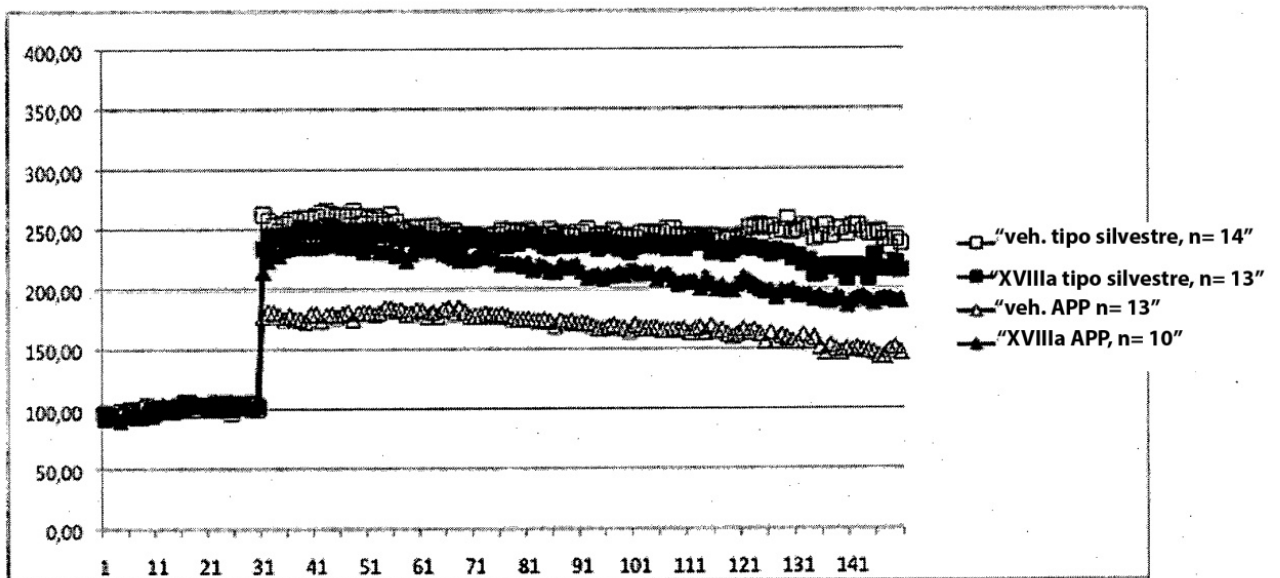


Fig. 5

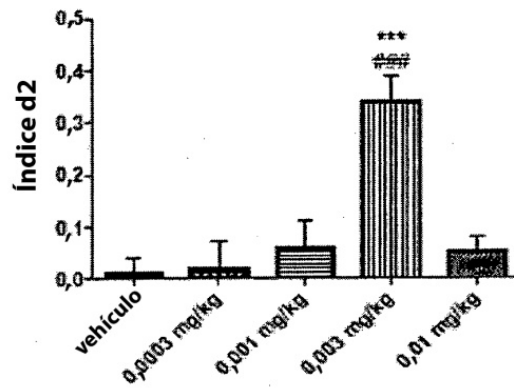


Fig. 6

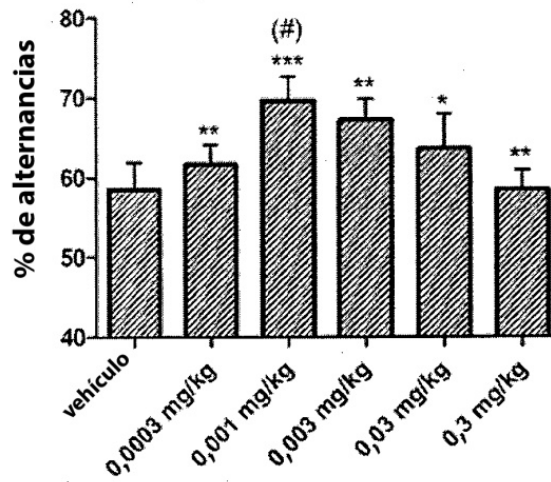


Fig. 7

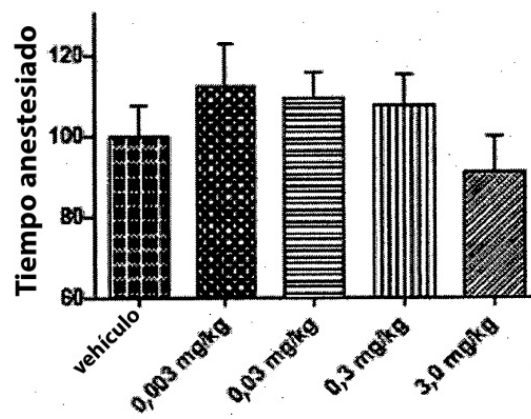


Fig. 8