



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 357 110**

(51) Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 31/5025 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **04719006 .1**

(96) Fecha de presentación : **10.03.2004**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1603917**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **14.12.2005**

(54) Título: **Compuesto heterocíclicos de inmunomodulación.**

(30) Prioridad: **14.03.2003 GB 0305876**
19.08.2003 GB 0319429

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.04.2011

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.04.2011

(73) Titular/es: **MEDIGENE Ltd.**
57 C Milton Park
Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX, GB
MEDIGENE AG.

(72) Inventor/es: **Mathews, Ian, Richard**

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 357 110 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

Compuestos heterocíclicos de inmunomodulación

La presente invención se relaciona con compuestos heterocíclicos novedosos, con los métodos para su preparación, con las composiciones que los contienen, y con los métodos y el uso para el tratamiento clínico de afecciones médicas que se pueden beneficiar de la inmunomodulación, por ejemplo enfermedad autoinmune, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, diabetes, asma, trasplantes, lupus eritematoso sistémico y psoriasis. Más particularmente, la presente invención se relaciona con novedosos compuestos heterocíclicos, que son antagonistas de CD80, capaces de inhibir las interacciones entre CD80 y CD28, útiles para la inmuno-inhibición.

Antecedentes de la Invención

El sistema inmune posee la capacidad para controlar la homeostasis entre la activación e inactivación de linfocitos a través de diferentes mecanismos reguladores durante y después de una respuesta inmune. Entre estos se encuentran los mecanismos que inhiben específicamente y/o desactivan una respuesta inmune. De esta manera, cuando un antígeno está presente mediante las moléculas MHC con el receptor de la célula-T, las células-T se llegan a activar adecuadamente solo en la presencia de señales co-estimuladoras adicionales. En la ausencia de estas señales accesorias no hay activación del linfocito y ya sea un estado de inactivación funcional denominado anergia o la tolerancia se induce, o la célula-T se suprime específicamente por la apoptosis.

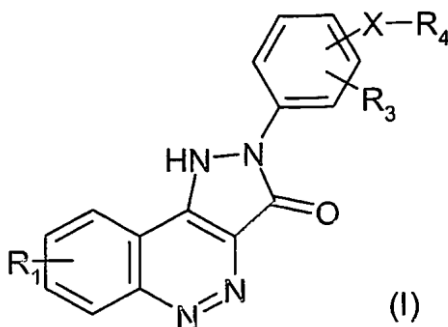
Dicha señal co-estimulante involucra la interacción de CD80 en las células presentadoras del antígeno especializado con CD28 sobre las células-T, y se ha demostrado que esta señal es esencial para la activación de la célula-T completa. (Lenschow et al. (1996) Annu. Rev. Immunol., 14, 233-258). Por consiguiente sería deseable proporcionar los compuestos que inhiben esta interacción de CD80/CD28.

WO 03/004495 describe los derivados del 3-oxo-dihidropirazolo[4,3-c]quinolin-2-il N-fenilo sustituidos, que son antagonistas de CD80, capaces de inhibir las interacciones entre CD80 y CD28 y presenta una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto, un método y el uso de dichos compuestos para el tratamiento clínico de afecciones médicas que se pueden beneficiar de la inmunomodulación, por ejemplo artritis reumatoide, esclerosis múltiple, diabetes, asma, trasplantes, lupus eritematoso sistémico y psoriasis.

US 4,591,589 revela los derivados 2-arilo-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il que tienen propiedades ansiolíticas, en este documento también se conocen como 2-arilo-2,5-dihidro-3-pirazolo[4,3-c]cinnolin-3-onas. En los compuestos de este documento el grupo arilo es opcionalmente sustituido por un alquilo, alcoxi, halógeno, halometilo o aralquilo.

Descripción Detallada de la Invención

De acuerdo con la presente invención se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico:



en donde

R₁ y R₃ independientemente representan H; F; Cl; Br; -NO₂; -CN; alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido por F o Cl; o alcoxi C₁-C₆ opcionalmente sustituido por F;

R₄ representa un grupo de ácido carboxílico (-COOH) o un éster de este, o -C(=O)NR₆R₇, -NR₇C(=O)R₆, -NR₇C(=O)OR₆, -NHC(=O)NR₇R₆ o -NHC(=S)NR₇R₆ en donde

R_6 representa un H, o un radical de fórmula $-(Alk)_m-Q$ en donde

m es 0 o 1

Alk es un radical alquileo C_1-C_{12} lineal o ramificado divalente opcionalmente sustituido, o alquilenilo C_2-C_{12} , o alquinileno C_2-C_{12} o un radical carbocíclico C_3-C_{12} divalente, cualquiera de los radicales que puede contener uno o más enlaces $-O-$, $-S-$ o $-N(R_8)-$, en donde R_8 representa un H o alquilo C_1-C_4 , alquilenilo C_3-C_4 , alquinilo C_3-C_4 , o cicloalquilo C_3-C_6 , y

Q representa un H; $-NR_9R_{10}$ en donde R_9 y R_{10} independientemente representa un H; alquilo C_1-C_4 ; alquilenilo C_3-C_4 ; alquinilo C_3-C_4 ; cicloalquilo C_3-C_6 ; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido; o R_9 y R_{10} forman un anillo cuando se toman junto con el nitrógeno al cual se unen, anillo que es opcionalmente sustituido; y

R_7 representa un H o alquilo C_1-C_6 ; o cuando se toma junto con el átomo o los átomos al cual se unen R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico monocíclico opcionalmente sustituido que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo; y

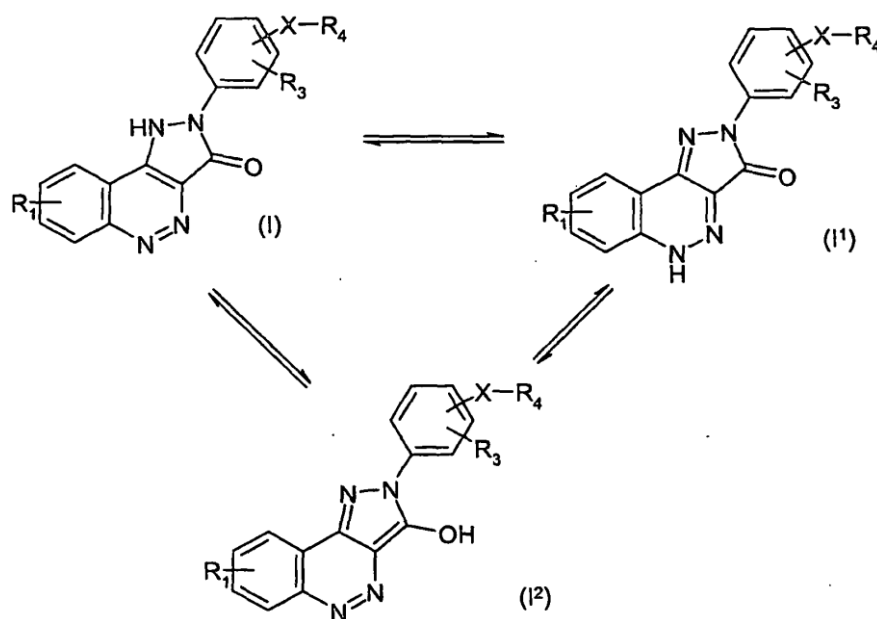
X representa un enlace o un radical divalente de fórmula $-(Z)_n-(Alk)-$ o $-(Alk)-(Z)_n-$ en donde Z representa un $-O-$, $-S-$ o $-NH-$, Alk es como se define en relación con R_6 y n es 0 o 1-

en donde a menos que se especifique de otra manera, en el contexto en el cual esto ocurre, el término "sustituido" como se aplica a cualquier fracción en este documento significa sustituido con al menos un sustituyente, seleccionado a partir de alquilo (C_1-C_6), alquilenilo (C_1-C_6), alquinilo (C_2-C_6), alquilo (C_1-C_6) fluor-sustituido, alquilenilo (C_1-C_6) fluor-sustituido, alquinilo (C_1-C_6) fluor-sustituido, alcoxi (C_1-C_6) y alcoxi (C_1-C_6) fluoro-sustituido (incluyendo el caso especial donde un anillo es sustituido en átomos de C del anillo adyacente por un alquilenodioxio o etilenodioxio), alquiltio (C_1-C_6), fenilo, benzilo, fenoxi, benziloxi, hidroxilo, mercapto, amino, fluor, cloro, bromo, ciano, nitro, oxo, $-COOH$, $-SO_2OH$, $-CONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-COR^A$, $-COOR^A$, $-SO_2OR^A$, $-NHCOR^A$, $-NHSO_2R^A$, $-CONHR^A$, $-SO_2NHR^A$, $-NHR^A$, $-NR^AR^B$, $-CONR^AR^B$ o $-SO_2NR^AR^B$ en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo (C_1-C_6) o alcoxi (C_2-C_6) o un grupo carbocíclico o heterocíclico monocíclico de 5-7 miembros del anillo, o R^A y R^B forman un anillo cuando se toman junto con el nitrógeno al cual se unen;

o

en donde "sustituido" significa sustituido por un fenilo, benzilo, fenoxi, o benziloxi, el anillo fenilo de este puede por sí mismo ser sustituido con cualquiera de los anteriores, con excepción del fenilo, benzilo, fenoxi, o benziloxi.

Los compuestos (I) pueden existir en la forma de tautómeros, tales como (I¹) y (I²):



A partir de ahora, los compuestos de la invención pueden estar representados y se refieren, en cualquier forma tautomérica (I), y se debe entender que cualquiera y todas las formas tautoméricas de estructura (I), en particular (I¹) y (I²), se incluyen en la invención.

5 Los compuestos de fórmula general (I), son antagonistas de CD80. Muestran la interacción entre CD80 y CD28 y de esta manera la activación de las células T, por consiguiente la modulación de la respuesta inmune.

En consecuencia la invención también incluye:

(i) un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables para uso farmacéutico o veterinario para utilizar en el tratamiento de afecciones que se pueden tratar con la inmunomodulación, y en particular por la inmuno-inhibición.

10 (ii) el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables para uso farmacéutico o veterinario en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de afecciones que se pueden tratar con la inmunomodulación, y en particular para la inmunoinhibición.

15 (iii) un método de inmunomodulación, y en particular de inmuno-inhibición, en mamíferos, incluyendo humanos, que comprende la administración a un mamífero con necesidad de dicho tratamiento, de una dosis efectiva inmunomoduladora de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables para uso farmacéutico o veterinario.

(iv) una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables para uso farmacéutico o veterinario junto con un excipiente o portador aceptable para uso farmacéutico o veterinario.

Las condiciones que se pueden tratar con la inmunomodulación incluyen:

20 Encefalomielitis diseminada aguda

Insuficiencia adrenal

Angitis alérgica y granulomatosis

Amiloidosis

Espondilitis anquilosante

25 Asma

Enfermedad de Addison autoinmune

Alopecia autoinmune

Hepatitis activa crónica autoinmune

Anemia hemolítica autoinmune

30 Neutrogena autoinmune

Púrpura trombocitopénica autoinmune

Enfermedad de Behçet

Degeneración cerebelosa

Hepatitis activa crónica

35 Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica

Neuropatía crónica con gammapatía monoclonal

Poliarteritis nodosa clásica

- Hiperplasia adrenal congénita
- Criopatías
- Dermatitis herpetiforme
- Diabetes
- 5 Síndrome miasténico Eaton-Lambert
- Encefalomielitis
- Epidermolisis bullosa adquirida
- Eritema nodosa
- Enteropatía por sensibilidad al gluten
- 10 Síndrome de Goodpasture
- Síndrome de Guillain-Barre
- Tiroiditis de Hashimoto
- Hipertiroidismo
- Hemacromatosis idiopática
- 15 Glomerulonefritis membranoso idiopático
- Vasculitis aislada del sistema nervioso central
- Enfermedad de Kawasaki
- Enfermedad renal de cambios mínimos
- Varias vasculitis
- 20 Enfermedad mixta de tejido conectivo
- Neuropatía motora multifocal con bloqueo de conducción
- Esclerosis múltiple
- Miastenia gravis
- Síndrome opsoclono-mioclono
- 25 Penfigoide
- Pénfigo
- Anemia perniciosa
- Polimiositis/dermatomiositis
- Artritis post-infecciosa
- 30 Esclerosis biliar primaria
- Psoriasis

Artritis reactiva

Enfermedad de Reiter

Retinopatía

Artritis reumatoide

5 Colangitis esclerosante

Síndrome de Sjögren

Síndrome de Persona-Rígida

Tiroiditis subaguda

Lupus eritematoso sistémico

10 Vasculitis necrotizantes sistémicas

Esclerosis sistémica (escleroderma)

Arteritis de Takayasu

Arteritis temporal

Tromboangeitis obliterante

15 Síndrome poliglandular autoinmune del tipo I y del tipo II

Colitis ulcerosa

Uveitis

Granulomatosis de Wegener

20 Como se utiliza en este documento, el término "éster" se refiere a un grupo de la forma $-\text{COOR}$, en donde R es un radical derivado como noción del alcohol ROH. Ejemplos de los grupos éster incluyen los ésteres hidrolizables fisiológicamente tales como los ésteres de metilo, etilo, n- y iso-propilo, n-, sec- y ter-butilo, y benzilo.

Como se utiliza en este documento el término "alquilenilo" se refiere a una cadena de alquilo lineal o ramificada que tiene dos valencias no satisfechas, por ejemplo $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, y $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$.

25 Como se utiliza en este documento el término "alquenileno" se refiere a una cadena alqueno lineal o ramificada que tiene dos valencias no satisfechas, por ejemplo $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$, y $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHCH}_2-$.

Como se utiliza en este documento el término "alquinileno" se refiere a una cadena alquino lineal o ramificado que tiene dos valencias no satisfechas, por ejemplo $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$, y $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$.

30 A menos de que se especifique de otra manera, en el contexto en el cual esto ocurre, el término "sustituido" como se aplica a cualquier fracción en este documento significa sustituido con al menos un sustituyente, seleccionado a partir de, por ejemplo, alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), alquenilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), alquinilo ($\text{C}_2\text{-C}_6$), alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido, alquenilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido, alquinilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido, alcoxi ($\text{C}_1\text{-C}_6$) y alcoxi ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido (incluyendo el caso especial donde un anillo es sustituido sobre los átomos de C del anillo adyacente por un alquilenodioxo tales como metilenodioxo o etilenodioxo), alquiltio ($\text{C}_1\text{-C}_6$), fenilo, benzilo, fenoxi, benziloxi, hidroxilo, mercapto, amino, fluor, cloro, bromo, ciano, nitro, oxo, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_2\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{COR}^A$, $-\text{COOR}^A$, $-\text{SO}_2\text{OR}^A$, $-\text{NHCOR}^A$, $-\text{NHSO}_2\text{R}^A$, $-\text{CONHR}^A$, $-\text{SO}_2\text{NHR}^A$, $-\text{NHR}^A$, $-\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{CONR}^A\text{R}^B$ o $-\text{SO}_2\text{NR}^A\text{R}^B$ en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) o alcoxi ($\text{C}_2\text{-C}_6$) o un grupo carbocíclico o heterocíclico monocíclico de 5-7 miembros del anillo, o R^A y R^B forman un anillo cuando se toman junto con el nitrógeno al cual se unen. En el caso donde "sustituido" significa sustituido por un fenilo, benzilo, fenoxi, o benziloxi, el anillo fenilo de este puede por sí mismo ser sustituido con cualquiera de los anteriores, con excepción del fenilo, benzilo, fenoxi, o benziloxi.

40

Como se utiliza en este documento el término "arilo" se refiere a un radical aromático carbocíclico mono-, bi- o tri-cíclico, y a dos de dichos radicales ligados covalentemente entre sí, ilustrativos de tales radicales son el fenilo, bifenilo y naftilo.

5 Como se utiliza en este documento el término "carbocíclico" no calificado incluye arilo, cicloalquilo y cicloalqueno y se refiere a un sistema de anillo (monocíclico, bicíclico, tricíclico o enlace) cuyos átomos del anillo son todos carbono.

Como se utiliza en este documento el término "cicloalquilo" no calificado se refiere a un sistema de anillo carbocíclico que contiene solo enlaces sencillos entre los carbonos del anillo.

10 Como se utiliza en este documento el término "cicloalqueno" no calificado se refiere a un sistema de anillo carbocíclico que contiene al menos un doble enlace entre un par de los carbonos del anillo.

15 Como se utiliza en este documento el término "heteroarilo" se refiere a un radical aromático mono-, bi- o tri-cíclico, que contiene uno o más heteroátomos seleccionados a partir de S, N y O. Ilustrativos de tales radicales son tienil, benztienil, furil, benzfuril, pirrolil, imidazolil, benzimidazolil, tiazolil, benzotiazolil, isotiazolil, benzisotiazolil, pirazolil, oxazolil, benzoxazolil, isoxazolil, benzisoxazolil, isotiazolil, triazolil, benzotriazolil, tiadiazolil, oxadiazolil, piridinil, piridazinil, pirimidinil, pirazinil, triazinil, indolil e indazolil.

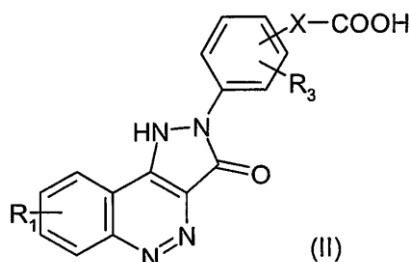
20 Como se utiliza en este documento el término "heterocíclico" no calificado incluye "heteroarilo" como se define anteriormente, y en particular significa un radical mono-, bi- o tri-cíclico o enlace no-aromático, que contiene uno o más heteroátomos seleccionados a partir de S, N y O, y con grupos que consisten de un radical no-aromático monocíclico que contiene uno o más de dichos heteroátomos que se unen covalentemente a otro dicho radical o con un radical carbocíclico monocíclico. Ilustrativos de tales radicales son grupos pirrolil, furanil, tetrahidrofuranil, tienil, piperidinil, imidazolil, oxazolil, isoxazolil, tiazolil, tiadiazolil, pirazolil, piridinil, pirrolidinil, pirimidinil, morfolinil, piperazinil, indolil, morfolinil, benzfuranil, piranil, tetrahidropiranil, quinuclidinilo, isoxazolil, benzimidazolil, metilenodioxifenil, etilenodioxifenil, maleimido y succinimido.

25 Algunos compuestos de la invención contienen uno o más centros quirales debido a la presencia de los átomos de carbono asimétricos. La presencia de átomos de carbono asimétricos da lugar a los estereoisómeros o diaestereoisómeros con estereoquímica R o S en cada centro quiral. La invención incluye todos los estereoisómeros y diaestereoisómeros y mezcla de estos.

30 Las sales de compuestos de la invención que forman sales incluyen sales de base y sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables. Las sales de adición de ácido apropiadas se forman a partir de ácidos que forman sales no-tóxicas. Ejemplos incluyen las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrógeno fosfato/dihidrógeno fosfato, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato. Las sales de bases apropiadas se forman a partir de bases que forman sales no-tóxicas. Ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatrina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc.

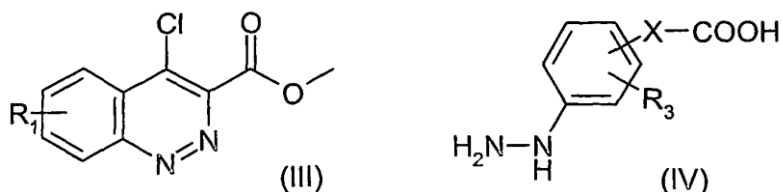
Métodos

40 Los compuestos de la invención, en donde R_4 representa un grupo amida $-C(=O)NR_6R_7$, se pueden preparar mediante la reacción de la apropiada HNR_6R_7 amina, con un compuesto de fórmula (II) para amidar el grupo del ácido carboxílico:

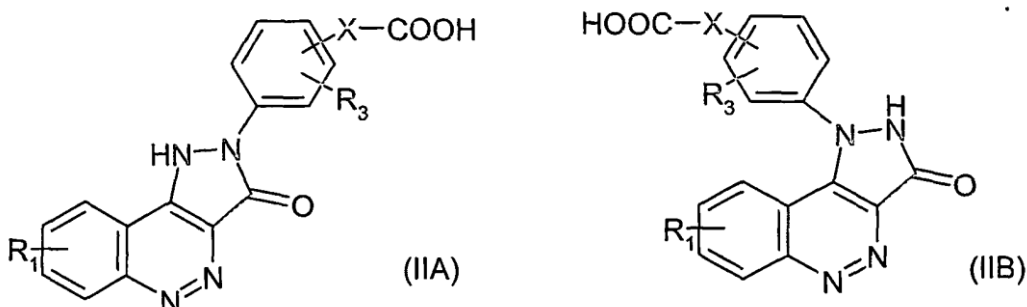


siendo los símbolos R_1 , R_3 , X, R_6 y R_7 , como se definen en relación con la anterior fórmula (I).

Los compuestos (II) (i.e. los compuestos (I) de la invención en donde R_4 es un grupo de ácido carboxílico) se pueden preparar, mediante la reacción de un compuesto de fórmula (III) con una hidracina de fórmula (IV):



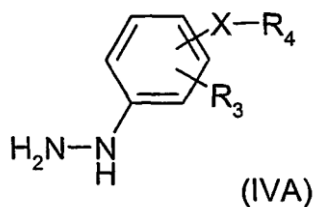
Esta reacción puede dar lugar a la preparación de una mezcla de los isómeros de posición (IIA) y (IIB):



5

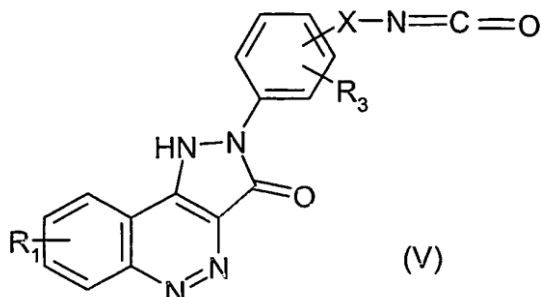
a partir de los cuales el isómero deseado (IIA) se puede separar.

Los compuestos (I) en donde R_4 es un grupo éster o amida también se puede preparar a partir de un intermedio (III) por reacción con la apropiada hidracina (IVA)



10 en donde R_4 es un grupo éster o amida. De nuevo la reacción puede dar lugar a una mezcla de los análogos del éster o la amida de los ácidos carboxílicos (IIA) y (IIB), a partir de los cuales el isómero (I) del éster o la amida deseado, se puede separar. De manera alternativa, el compuesto (II) del ácido carboxílico puede simplemente ser esterificado, o amidado.

15 Los compuestos (I) en donde R_4 es un grupo $-NR_7C(=O)R_6$ "amida reverso", se pueden preparar mediante el reordenamiento de Curtius (ver Ninomiya, K.; Shioiri, T.; Yamada, S. Tetrahedron (1974), 30(14), 2151-7) del ácido carboxílico (II) al isocianato (V)



seguido por la hidrólisis del grupo isocianato a un grupo amino y la acilación del grupo amino con, por ejemplo, el ácido Cl-C(=O)R_6 cloruro. En los casos donde R_7 no es hidrógeno, el sustituyente R_7 se puede introducir después de la etapa de reducción del isocianato o después de la etapa de acilación.

- 5 En una ruta alterna para los compuestos de la invención "amida reversa" ($\text{R}_4 = -\text{NR}_7\text{C(=O)R}_6$), un compuesto de estructura (V) en el cual la fracción isocianato se reemplaza por un grupo nitro se puede reducir a la amina correspondiente, que luego puede ser acilada para formar la amida reversa deseada.

Los compuestos (I), en donde R_4 es un grupo urea $-\text{NHC(=O)NHR}_6$ o grupo tiourea $-\text{NHC(=O)NHR}_6$, también se puede preparar a partir del isocianato (V) o el isotiocianato correspondiente por la reacción con la apropiada amina H_2NR_6 .

- 10 Los compuestos (I), en donde R_4 es un grupo carbamato $-\text{NR}_7\text{C(=O)OR}_6$, se pueden preparar por la reacción del isocianato con un apropiado alcohol R_6OH .

Otros detalles de los métodos sintéticos para la preparación de los compuestos (I) de la invención, e intermedios tales como (III), se pueden encontrar en los ejemplos en este documento.

En los compuestos de la invención:

- 15 El radical $\text{R}_4\text{X-}$ está preferiblemente en la posición 4 del anillo fenilo.

X puede ser, por ejemplo un enlace, o un radical $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Un enlace se prefiere en el momento.

R_3 puede ser, por ejemplo, H, F, Cl, metilo, metoxi, o metilenodioxo. Durante el presente se prefiere que R_3 sea H.

- 20 R_1 puede ser, por ejemplo, H, F, Cl, metilo, metoxi, o metilenodioxo. Durante el presente se prefiere que R_1 sea hidrógeno o fluor, particularmente en la posición 6 del sistema de anillo 3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il.

R_4 representa un grupo de ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) o un éster de este, o $-\text{C(=O)NR}_6\text{R}_7$, $-\text{NR}_7\text{C(=O)R}_6$, $-\text{NR}_7\text{C(=O)OR}_6$ o $-\text{NHC(=O)NHR}_6$, todo como se define anteriormente.

Cuando R_4 es un grupo éster, los ejemplos incluyen aquellos de fórmula $-\text{COOR}$ en donde R es metilo, etilo n- o isopropilo, n-, sec- o ter-butilo, o benzilo éster.

- 25 R_6 , cuando está presente, representa un H, o un radical de fórmula $-(\text{Alk})_m\text{-Q}$ en donde m, Alk y Q son como se definen anteriormente.

- 30 Cuando m es 1, Alk puede ser, por ejemplo un radical alquileo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado, tales como $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, y $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$. Alk también puede ser, por ejemplo, un radical ciclopropileno, ciclopentileno o ciclohexileno divalente. El radical Alk puede ser opcionalmente sustituido por, por ejemplo, OH, oxo, CF_3 , metoxi o etoxi. El radical Alk opcionalmente puede contener un hetero átomo, por ejemplo en la forma de un enlace éter, tioéter o amino.

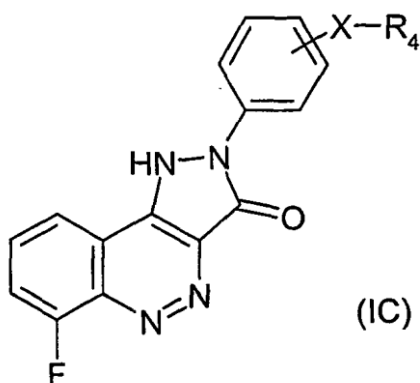
- 35 El grupo Q puede representar, por ejemplo, hidrógeno; $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$ en donde R_9 y R_{10} pueden ser iguales o diferentes y seleccionados a partir de hidrógeno, metilo, etilo, n- o isopropilo o ter-butilo; un grupo éster por ejemplo un metilo, etilo o benzilo éster; o un grupo arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo o heterocíclico opcionalmente sustituido, por ejemplo un grupo fenilo, fenoxi, ciclopentilo, ciclohexilo, furil, tienil, quinuclidinilo, piperidil, o piperazinil.

R_7 cuando se presenta, representa un H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, por ejemplo metilo, etilo n- o iso-propilo, n-, sec- o ter-butilo;

o cuando se toma junto con el átomo o átomos al cual se unen R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico monocíclico que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo.

- 40 Especialmente se prefieren los casos donde R_4 representa $-\text{C(=O)NR}_6\text{R}_7$ o $-\text{NHC(=O)NR}_7\text{R}_6$ en donde R_7 es un hidrógeno y R_6 representa un radical de fórmula $-(\text{Alk})_m\text{-Q}$, en donde m es 1 y el radical divalente Alk contiene 3 o 4 átomos de carbono y es no sustituido, y Q representa $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$ en donde R_9 y R_{10} independientemente representan un H; alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$; alquenilo $\text{C}_3\text{-C}_4$; alquinilo $\text{C}_3\text{-C}_4$; cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido; o forman un anillo cuando se toman junto con el nitrógeno al cual se unen, anillo que es opcionalmente sustituido.

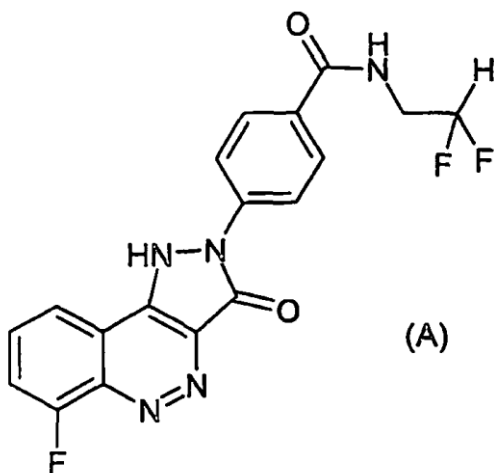
- 45 Un específico subconjunto preferido de los compuestos de la invención tiene la fórmula (IC):



en donde X y R₄ son como se especifica anteriormente. En este subconjunto, el radical R₄X- puede estar en la posición 4 del anillo fenilo. Este subconjunto incluye en particular, los compuestos en donde X es un enlace y R₄ es -C(=O)NR₆R₇ en donde R₆ y R₇ son como se especifica anteriormente. Por ejemplo, en tales compuestos R₆ puede ser un quinuclidinilo y R₇ un hidrógeno.

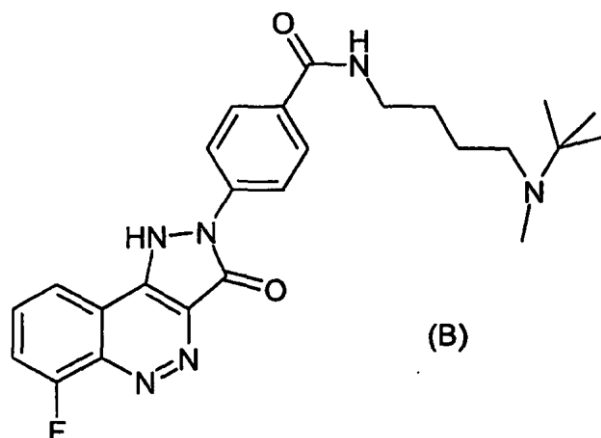
Los compuestos de la invención específicos incluyen los de los Ejemplos en este documento.

Un compuesto preferido de la invención es el 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(2,2-difluoro-etilo)-benzamida, de fórmula (A)



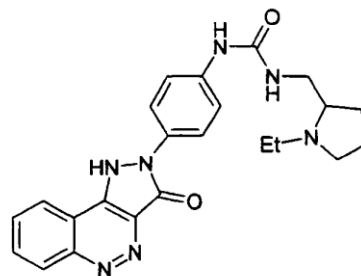
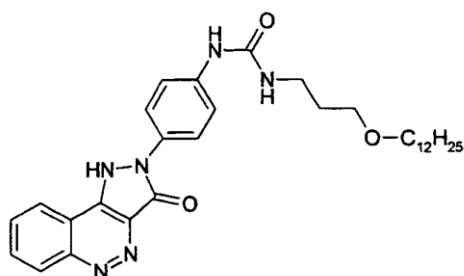
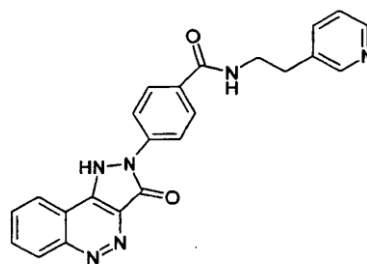
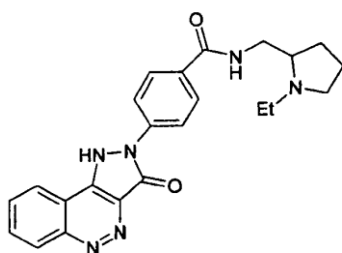
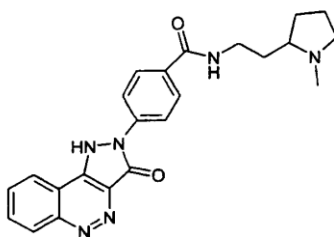
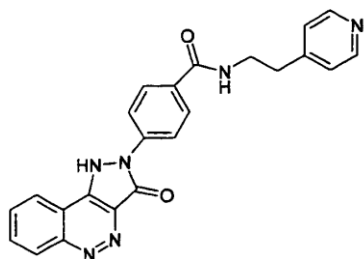
o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico.

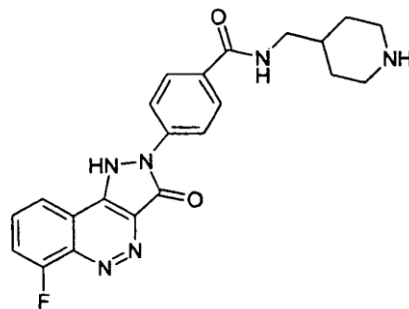
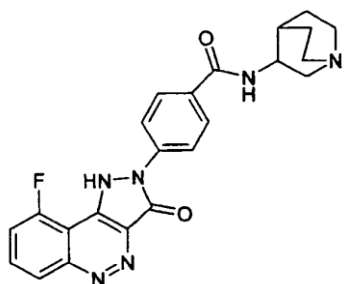
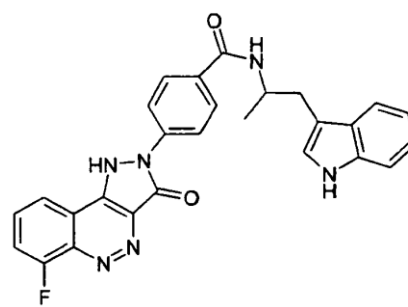
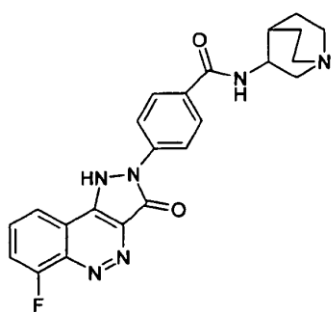
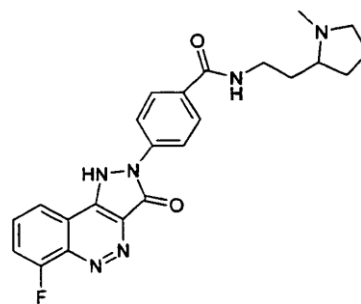
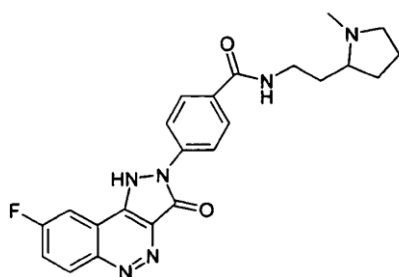
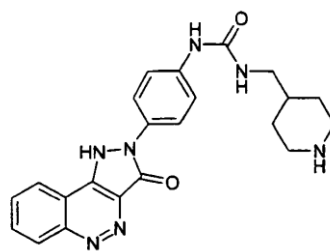
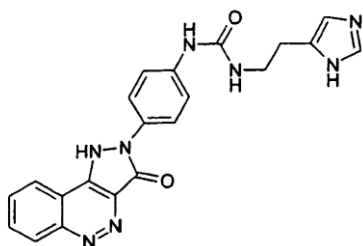
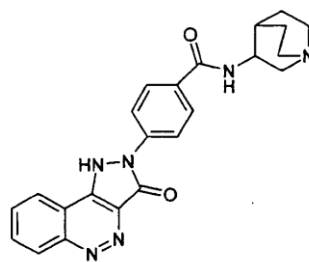
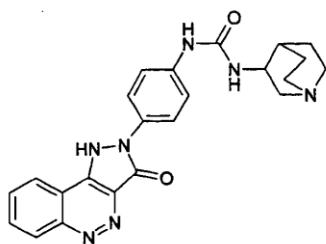
Otro compuesto preferido de la invención es la N-[3-(ter-butilo-metilo-amino)-butilo]-4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-benzamida, de fórmula (B):

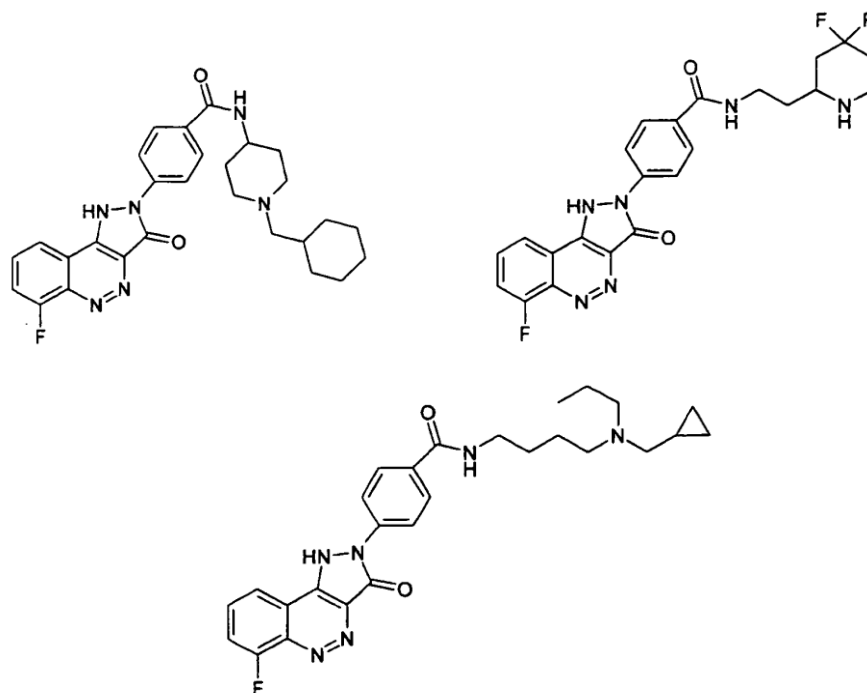


o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico.

Otro objeto de la presente invención es un compuesto de la estructura, seleccionado a partir de uno de los grupos que consiste de las siguientes fórmulas:







o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico.

Como se menciona anteriormente, la invención incluye una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables para uso farmacéutico o veterinario junto con un excipiente o portador aceptable para uso farmacéutico o veterinario. En tales composiciones, se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos y la causa y severidad de la enfermedad particular, en tratamiento. Los niveles de dosis óptimos y frecuencia de dosificación serán determinados por pruebas clínicas.

Los compuestos que son objeto de la invención, se pueden preparar para la administración por cualquier ruta consistente con sus propiedades farmacocinéticas. Las composiciones administrables por vía oral pueden ser en la forma de comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, grajeas, preparaciones líquidas o gel, tales como suspensiones o soluciones parenterales orales, tópicos, o estériles. Los comprimidos y cápsulas para la administración pueden ser en forma de presentación de dosis por unidad, y pueden contener excipientes convencionales tales como agentes de enlace, por ejemplo jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, o polivinilpirrolidona; rellenos por ejemplo lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricante de compresión de tabletas, por ejemplo estearato de magnesio, talco, polietileno glicol o sílica; desintegrantes por ejemplo almidón de patata, o agentes de humectación aceptables tales como sodio lauril sulfato. Los comprimidos se pueden recubrir de acuerdo con los métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal. Las preparaciones líquidas orales pueden ser en la forma de, por ejemplo, suspensiones, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosas u oleosas, o se pueden presentar como un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo apropiado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo sorbitol, jarabe, metilcelulosa, jarabe de glucosa, grasas comestibles hidrogenadas gelatina; agentes emulsificantes, por ejemplo lecitina, sorbitan monooleato, o acacia; vehículos no-acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), por ejemplo aceite de almendras, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos tales como glicerina, propileno glicol, o alcohol etílico; conservantes, por ejemplo metilo o propilo p-hidroxibenzoato o ácido sórbico, y si se desea agentes de coloración o saborizantes convencionales.

Para la aplicación tópica en la piel, el fármaco se puede fabricar en una crema, loción o ungüento. Las formulaciones en crema o ungüento que pueden ser utilizadas para el fármaco son formulaciones convencionales bien conocidas en el oficio, por ejemplo como se describe en libros de texto estándar de productos farmacéuticos tales como the British Pharmacopoeia.

Para la aplicación tópica en los ojos, el fármaco se puede fabricar en una solución o suspensión en un vehículo acuoso o no acuoso estéril apropiado. Los aditivos, por ejemplo soluciones reguladoras tales como sodio metabisulfito o edetato disódico; conservantes incluyendo agentes bactericidas y fungicidas tales como fenil acetato

de mercurio o nitrato, cloruro de benzalconio o clorhexidina, y también se pueden incluir agentes espesantes tales como hipromelosa.

El ingrediente activo también se puede administrar vía parenteral en un medio estéril. Dependiendo del vehículo y la concentración utilizada, el fármaco puede ser tanto suspendido como disuelto en el vehículo. Ventajosamente, los adyuvantes tales como un anestésico local, conservantes y agentes reguladores se pueden disolver en el vehículo.

Las modalidades de la invención se describen en los siguientes Ejemplos no-limitantes:

Las siguientes abreviaturas se utilizan en las descripciones experimentales:

DMF Dimetil formamida

DMA Dimetil acetamida

10 DMSO Dimetilsulfóxido

HBTU O-Benzotriazol-1-il-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio hexafluorofosfato

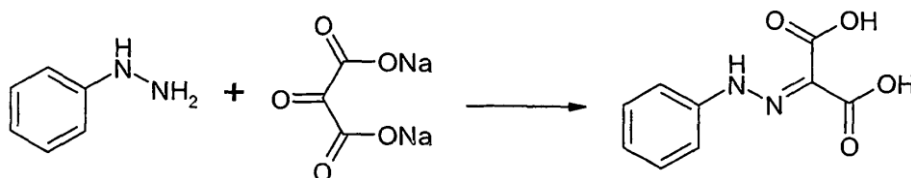
HPLC Cromatografía líquida de alta resolución

LCMS Cromatografía líquida/Espectrometría de masas

NMR Espectroscopía de resonancia magnética

15 **Ejemplo 1**

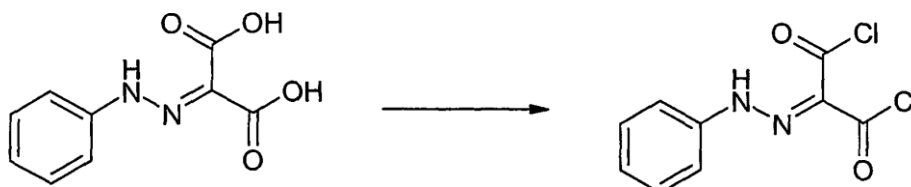
Etapla 1: Preparación del ácido (fenilhidrazono)malónico:



20 Mesoxalato de sodio monohidrato (5.00 g, 27.8 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 1 M (50 ml) para proporcionar una solución turbia incolora. Se adicionó gota a gota fenilhidrazina (3.00 g, 2.72 ml, 27.8 mmol) a temperatura ambiente a la mezcla en agitación. Un precipitado de color amarillo formado, se recolectó por filtración después de 90 min y se lavó con agua (50 ml). La torta del filtrado se trituro con acetato de etilo/hexano [1:1], se filtró y secó bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color amarillo (4.74 g, 22.7 mmol, 82%). LCMS: m/z 207 [M-H]⁺.

25 De manera alternativa el producto se puede extraer de la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 250 ml), la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el solvente se retiró bajo vacío.

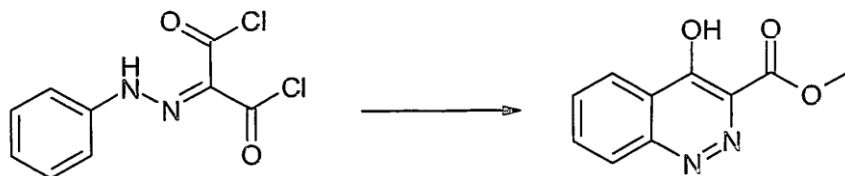
Etapla 2: Preparación de (fenilhidrazono)malonoil dicloruro:



30 El ácido (fenilhidrazono) malónico (1.00 g, 4.80 mmol) se mezcló bajo una atmósfera inerte con cloroformo seco (15 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y se adicionó poco a poco pentacloruro de fósforo (2.19 g, 10.5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 1.5 h, para proporcionar una solución de color verde. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con hexano (15

ml). Un precipitado de color verde se formó, se recolectó por filtración y se secó bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color verde (645 mg, 2.63 mmol, 53%).

Etapas 3: Preparación del metilo 4-hidroxicinolina-3-carboxilato



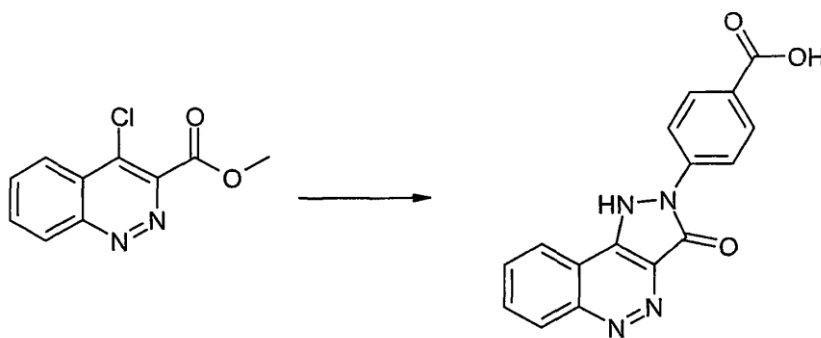
- 5 Se mezcló el (fenilhidrazono)malonil dicloruro (2.45 g, 0.01 mmol) bajo una atmósfera inerte con 1,2-dicloroetano (15 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. Se adicionó gota a gota el tetracloruro de titanio (1.89 g, 1.09 ml) para formar una solución de color marrón. La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, se enfrió a temperatura ambiente y se apagó gota a gota con metanol (15 ml). La agitación se continuó por 30 min y los volátiles se retiraron bajo vacío. Se adicionó agua (100 ml) y la suspensión obtenida fue extraída con *n*-butanol (2 x 50 ml).
 10 Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 20 ml) y se concentraron bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un sólido de color verde (1.04 g, 5.10 mmol, 51 %). LCMS: m/z 205 $[M+H]^+$.

Etapas 4: Preparación del metilo 4-clorocinolina-3-carboxilato:



- 15 Se adicionó gota a gota cloruro de tionilo (8.15 g, 5 ml) bajo una atmósfera inerte al metilo 4- hidroxicinolina-3-carboxilato (0.50 g, 2.45 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 1.5 h, se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se retiró bajo vacío. Se adicionó tolueno (5 ml) al residuo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los sólidos se recolectaron por filtración y se secaron bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un sólido de color marrón (248 mg, 1.11 mmol, 45%). LCMS: m/z 223 $[M+H]^+$.

Etapas 5: Preparación del ácido 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-il)benzoico:

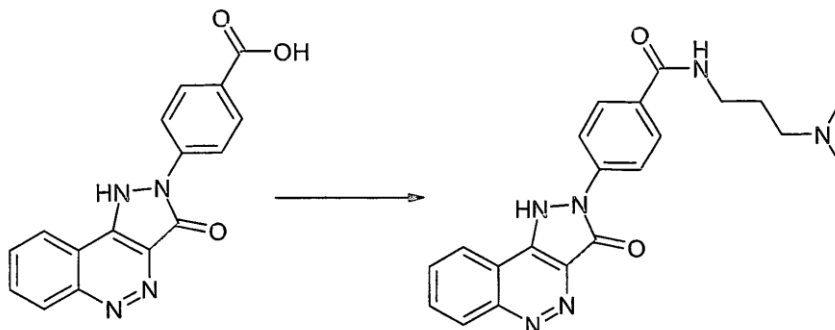


- 20 El ácido 4-hidrazinobenzoico (68.4 mg, 0.45 mmol) se mezcló a temperatura ambiente con etanol (5 ml) para proporcionar una suspensión de color crema. Se adicionó metil 4-clorocinolina-3-carboxilato (100 mg, 0.45 mmol) y la mezcla se calentó entre 45-50°C por 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el solvente se retiró bajo vacío. Se adicionó acetato de etilo (10 ml) al residuo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante
 25 1 h. Los sólidos se recolectaron por filtración y se secaron bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color marrón (120 mg, 0.39 mmol, 86%). LCMS: m/z 307 $[M+H]^+$. NMR $[DMSO-d_6]$: δ = 7.69-7.77 (m, 1 - H_{aril}); 7.81-7.90 (m, 2 H_{aril}); 8.05 (d, J = 8.85, 2 H_{aril}); 8.20 (d, J = 7.92 Hz, 1 H_{aril}); 8.33 (d, J = 8.85 Hz, 2 H_{aril}); 14.64 (s, NH).

- 30 De manera alternativa la reacción se puede llevar a cabo a temperatura ambiente. En este caso, un tiempo de reacción más largo de 2-3 h se puede necesitar.

Ejemplo 2

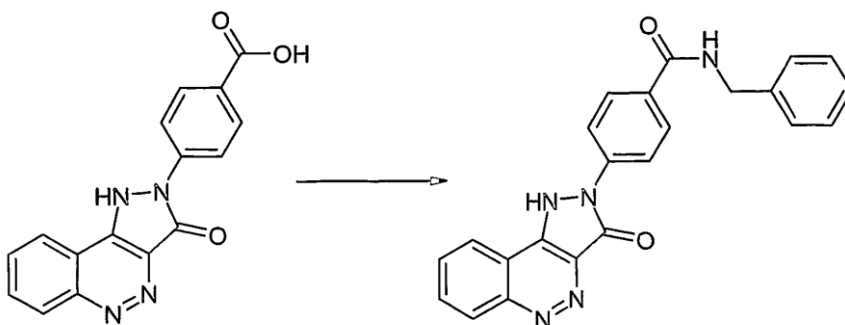
Preparación de la *N*-[(dimetilamino)propilo]-4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-il)benzamida:



- 5 El ácido 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-il)benzoico (25 mg, 0.08 mmol) se mezcló con DMF (1 ml). Se adicionaron diisopropiletilamina (21 mg, 28 μ l, 0.16 mmol) y 3-dimetilaminopropilamina (8.2 mg, 10.0 μ l, 0.09 mmol), seguido por HBTU (30.3 mg, 0.08 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. El producto se purificó por HPLC preparativa. El compuesto de título fue aislado como un sólido de color rojo (12.6 mg, 0.032 mmol, 40%). LCMS: m/z 391 $[M+H]^+$.

Ejemplo 3

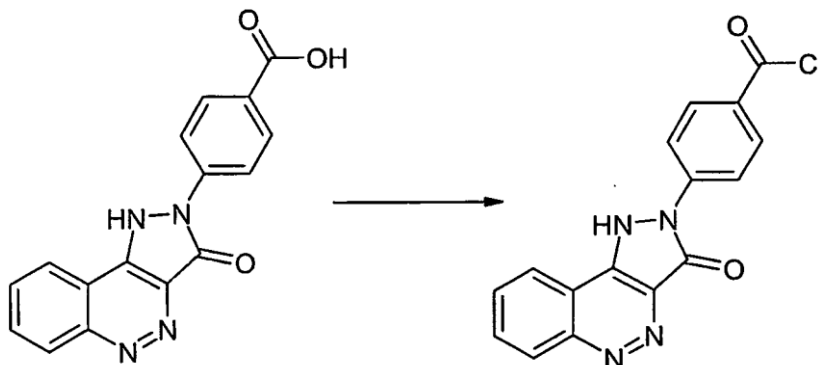
- 10 Preparación de la *N*-benzilo-4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-il)benzamida:



- 15 El ácido 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-il)benzoico (52 mg, 0.17 mmol) se mezcló con DMF (2 ml). Se adicionaron diisopropiletilamina (22 mg, 29 μ l, 0.17 mmol) y bencilamina (18.2 mg, 18.6 μ l, 0.17 mmol), seguido por HBTU (64.5 mg, 0.17 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El producto se purificó por HPLC preparativa. El compuesto de título fue aislado como un sólido de color rojo (6.6 mg, 0.02 mmol, 10%). LCMS: m/z 396 $[M+H]^+$.

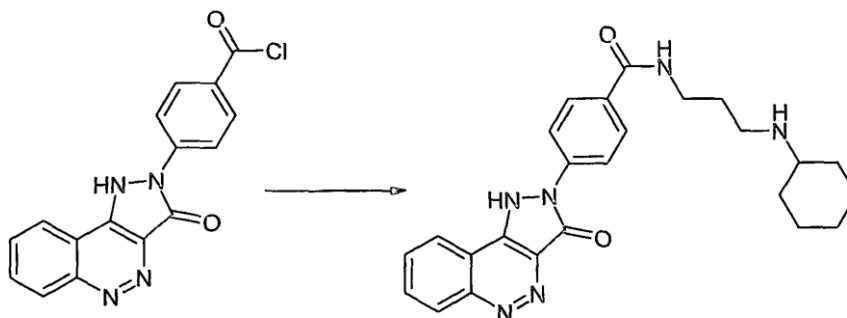
Ejemplo 4

Etapas 1: Preparación del 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-il)benzoil cloruro:



Se adicionó el cloruro de tionilo (90 ml) al ácido 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo-[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoico (2.36 g, 7.70 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 2 h, bajo una atmósfera de nitrógeno. Una solución de color rojo oscuro fue obtenida, se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se retiró bajo vacío. Se adicionó tolueno (30 ml) a los residuos y la mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno hasta que la precipitación se completó. Los sólidos se recolectaron por filtración y se lavaron con tolueno (2 x 30 ml). El compuesto de título fue aislado como un sólido de color rojo (2.20 g, 6.77 mmol, 88%) LCMS: m/z 321 [M+H]⁺ (éster de metilo que resulta de la muestra formada en metanol).

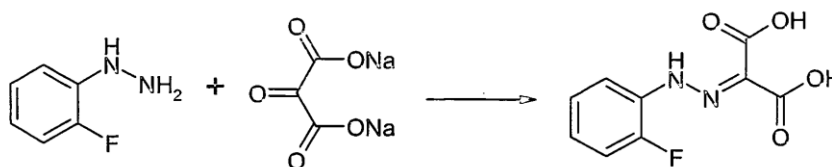
Etapla 2: Preparación de la N-[(ciclohexilamino)propilo]-4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzamida:



El 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoil cloruro (97 mg, 0.30 mmol) se disolvió en DMA anhidro (2 ml). Se adicionó diisopropiletilamina (39 mg, 53 µl, 0.60 mmol) seguido por N-ciclohexilo-1,3-propanodiamina (52 mg, 0.60 mmol). La mezcla se agitó por 30 min. Se adicionó agua (5 ml) para proporcionar una suspensión de color rojo oscuro. La mezcla fue extraída con n-butanol (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y se concentraron bajo vacío, hasta que se observó una precipitación. Se adicionaron hexano (20 ml) y acetato de etilo (10 ml), los sólidos se recolectaron por filtración y se secaron bajo vacío. El producto fue aislado como un polvo de color rojo oscuro (82 mg, 0.18 mmol, 62%). LCMS: m/z 445 [M+H]⁺.

Ejemplo 5:

Etapla 1: Preparación del ácido [(2-Fluorofenil)hidrazono]malónico:



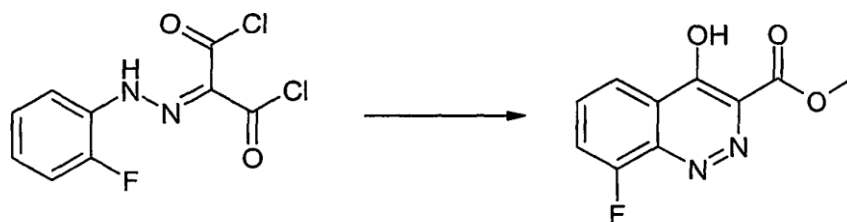
El mesoxalato de sodio monohidrato (2.21 g, 12.3 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 1M (50 ml), para proporcionar una solución turbia incolora. Se adicionó 2-fluorofenilhidrazina clorhidrato (2.00 g, 12.3 mmol) poco a poco a temperatura ambiente a la mezcla en agitación. Se forma un precipitado de color amarillo, la mezcla se diluyó con agua (50 ml) y la agitación se continuó durante la noche. Se adicionó acetato de etilo (150 ml), las fases se mezclaron vigorosamente hasta que los sólidos se han disueltos. Las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con acetato de etilo (50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtró y el solvente se retiró bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color amarillo (2.55 g, 11.7 mmol, 92%). LCMS: m/z 227 [M-H]⁺.

Etapla 2: Preparación del [(2-Fluorofenil)hidrazono]malonoil dicloruro:



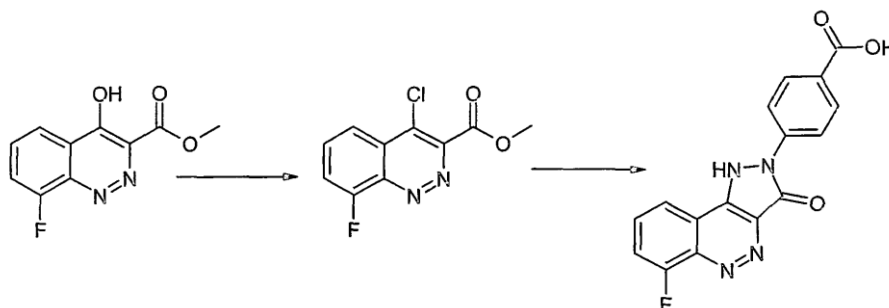
Se mezcló el ácido (2-Fluorofenilhidrazono)malónico (1.33 g, 5.88 mmol) bajo una atmósfera inerte con cloroformo seco (20 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y se adicionó poco a poco el pentacloruro de fósforo (2.69 g, 12.9 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 2 h, para proporcionar una solución de color amarillo oscuro. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo vacío hasta que la precipitación sucede. Los sólidos se recolectaron por filtración, se lavaron con hexano (30 ml) y se secaron bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color amarillo (760 mg, 2.89 mmol, 49%).

Etapas 3: Preparación del metilo 8-fluor-4-hidroxicinolina-3-carboxilato:



Se mezcló el (2-Fluorofenilhidrazono)malonoyl dicloruro (19.4 g, 74 mmol) bajo una atmósfera inerte con 1,2-dicloroetano (100 ml), para proporcionar una suspensión de color amarillo. Se adicionó gota a gota tetracloruro de titanio (13.9 g, 8.08 ml, 74 mmol) para formar una solución de color marrón. La mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Además el tetracloruro de titanio (13.9 g, 8.08 ml, 74 mmol) se adicionó y el calentamiento se continua por 24 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0-5°C y se apagó gota a gota con metanol (50 ml). La agitación se continuó por 1 h a temperatura ambiente y los volátiles se retiraron bajo vacío. Se adicionó agua (300 ml) y la suspensión obtenida fue extraída con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron bajo vacío. Un sólido de color amarillo fue obtenido (12 g de producto crudo). LCMS: m/z 223 [M+H]⁺.

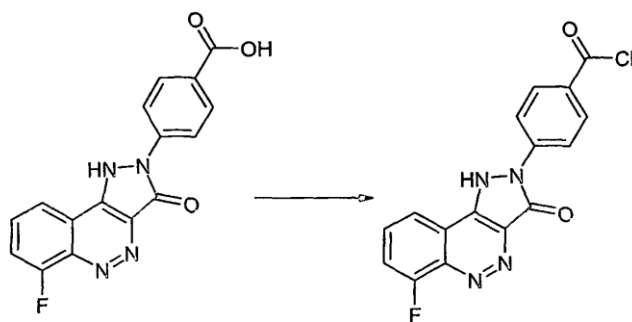
Etapas 4: Preparación del ácido 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoico:



El 8-Fluoro-4-hidroxicinolina-3-carboxilato crudo a partir de la etapa previa (1.00 g, 4.95 mmol), se disolvió en cloruro de tionilo (50 ml). La solución se calentó a reflujo durante 2-3 h, hasta que no se observó otra producción de gas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se retiró bajo vacío. El intermedio crudo se formó como azeótropo con tolueno (3 x 25 ml). Un sólido de color marrón oscuro fue obtenido, el cual se tomó con etanol (25 ml). Se adicionó el ácido 4-hidrazinobenzoico (640 mg, 4.21 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los sólidos se recolectaron por filtración, se suspendieron en HCl 1M (100 ml), se filtraron, se lavaron con hexano (50 ml) y se secaron bajo vacío. Un sólido de color marrón fue obtenido (890 mg de producto crudo). LCMS: m/z [M+H]⁺ 325.

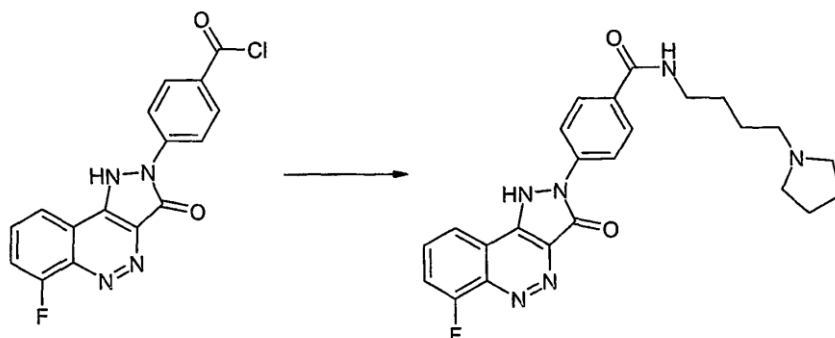
Ejemplo 6

Etapas 1: Preparación del ácido 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoico cloruro:



El ácido 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazo[4,3-c]cinnolin-2-il)-benzoico crudo (1.45 g) a partir de la etapa previa, se disolvió en cloruro de tionilo (50 ml). La mezcla se calentó a 70°C por 2-3 h hasta que no se observó ninguna producción de gas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se retiró bajo vacío. Los residuos se formaron como azeótropos con tolueno (2 x 20 ml), para proporcionar un sólido. El sólido se recolectó por filtración, se lavó con tolueno y se secó bajo vacío. El producto fue aislado como un polvo de color amarillo (670 mg, 1.95 mmol). LCMS: m/z $[M+H]^+$ + 339 (éster de metilo resultante de una muestra formada en metanol).

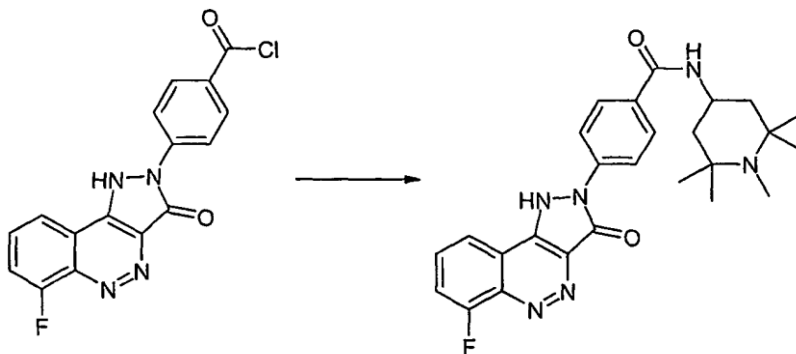
Etapla 2: Preparación de la 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(pirrolid in-1-il-butilo)benzamida:



El 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoil cloruro (100 mg, 0.29 mmol) se disolvió en DMA anhidro (2 ml). Se adicionó diisopropiletilamina (75 mg, 101 μ l, 0.58 mmol), seguido por 1-(4-aminobutil)pirrolidina (41 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se adicionaron agua (5 ml) y n-butanol (5 ml). Las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (2 x 5 ml). Los volátiles se retiraron bajo vacío. El producto fue aislado como un polvo de color marrón (50 mg, 0.11 mmol, 37%). LCMS: m/z $[M+H]^+$ 463.

Ejemplo 7

Preparación de la 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(1,2,2,6,6-pentametilpiperidina-4-il)benzamida:

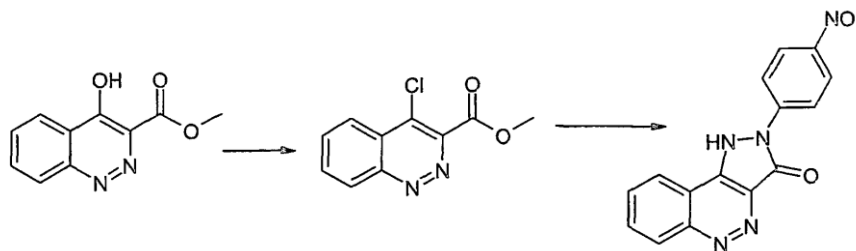


El 4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoil cloruro (100 mg, 0.29 mmol) se disolvió en DMA anhidro (2 ml). Se adicionó diisopropiletilamina (75 mg, 101 ml, 0.58 mmol), seguido por 4-amino-1,2,2,6,6-

pentametilpiperidina (49 mg, 0.29 mmol). La mezcla se agitó durante la noche. Se adicionaron agua (5 ml) y *n*-butanol (5 ml). Las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (2 x 5 ml) y la solución se concentró bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un sólido de color rojo (50 mg, 0.105 mmol, 36%). LCMS: m/z [M+H]⁺ 477.

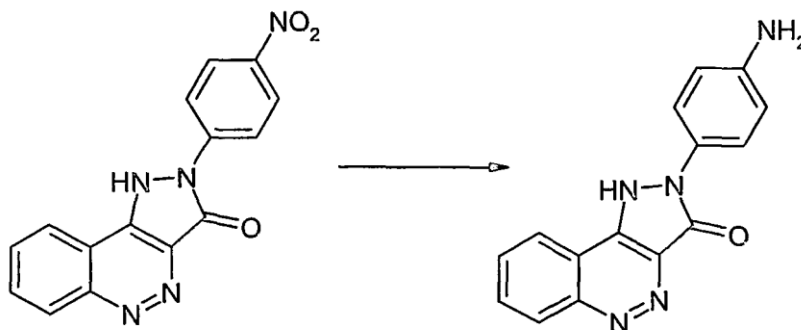
5 Ejemplo 8

Etapas 1: Preparación de la 2-(4-nitrofenil)-1,2-dihidro-3*H*-pirazolo [4,3-*c*] cinnolin-3-ona



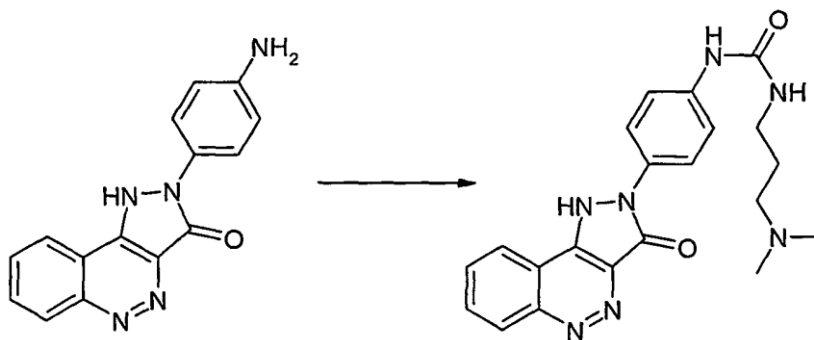
El cloruro de tionilo (326 g, 200 ml), se adicionó gota a gota bajo una atmósfera inerte al metilo 4-hidroxycinnolina-3-carboxilato (10.0 g, 49 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 2.5 h, se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se retiró bajo vacío. Se adicionó tolueno (100 ml) al residuo y se retiró bajo vacío. Este procedimiento se repitió con más tolueno (100 ml). Un material semi-sólido de color marrón fue obtenido y se lleva con etanol (200 ml). Se adicionó poco a poco la 4-Nitrofenilhidrazina (5.99 g, 39.2 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se calentó a 40-45°C por 1 h y se enfrió a temperatura ambiente. Los sólidos se recolectaron por filtración, se trituraron con etanol (100 ml) y se secaron bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un sólido de color marrón (8.42 g, 27.4 mmol, 70%). LCMS: m/z 308 [M+H]⁺.

Etapas 2: Preparación de la 2-(4-aminofenil)-1,2-dihidro-3*H*-pirazolo [4,3-*c*] cinnolin-3-ona



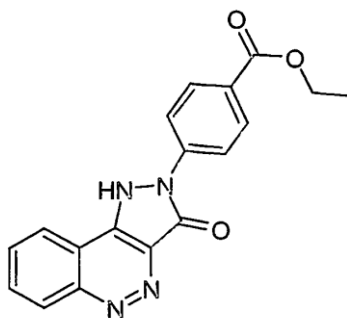
La 2-(4-nitrofenil)-1,2-dihidro-3*H*-pirazolo [4,3-*c*] cinnolin-3-ona (11.4 g, 37.2 mmol), fue suspendida en una mezcla de etanol (100 ml) y agua (100 ml). Se adicionaron hierro en polvo (11.1 g, 200 mmol) y cloruro de amonio (5.34 g, 100 mmol). La mezcla se calentó a 80°C durante la noche, se enfrió a temperatura ambiente y se basificó con carbonato de potasio a pH 9-10. Los sólidos se retiraron por filtración a través de una almohadilla de Celite®. El filtrado fue extraído con *n*-butanol (2 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron bajo vacío para proporcionar un sólido de color rojo. El sólido se trituró con metanol (100 ml), se filtró y secó bajo vacío. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color rojo oscuro (5.58g, 20.1 mmol, 57%). LCMS: m/z 278 [M+H]⁺.

Etapas 3: Preparación de la *N*-[3-(dimetilamino)propilo]-*N'*-[4-(3-oxo-1,3-dihidro-2*H*-pirazolo [4,3-*c*]cinnolin-2-il) fenilo] urea



La 2-(4-aminofenil)-1,2-dihidro-3H-pirazo[4,3-c]cinnolin-3-ona (44 mg, 0.16 mmol), fue suspendida en tolueno bajo una atmósfera de nitrógeno (0.5 ml) a 0-5°C. Se adicionó DMA (0.5 ml) seguido por N,N'-carbonildiimidazol (26 mg, 0.16 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h entre 0-5°C, antes de ser mezclada con una solución de 3-dimetilaminopropilamina (18 mg, 0.18 mmol) en tolueno (0.5 ml). La agitación se continuó por 1 h y el producto se purificó por HPLC preparativa. El compuesto de título fue aislado como un polvo de color rojo oscuro (2.6 mg, 6 mmol, 4%). LCMS: m/z 406 [M+H]⁺.

Ejemplo 9: Preparación del ácido 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoico etilo éster.



- 10 El compuesto de título se preparó por el método del Ejemplo 1 etapa 5, sustituyendo el ácido 4-hidrazinobenzoico etil éster por el ácido original. MS: MH⁺ = 335.2

Resultados

El uso del análisis interacción biomolecular BIAcore

- 15 CD80 humano biotinilado (hCD80-BT) es una forma soluble recombinante de una molécula del receptor unido a la membrana (CD80) que se une a CD28 para iniciar la activación de la célula T. La interacción entre CD80 y CD28 ha sido ampliamente investigada (Collins et al, 2002). HLA-A2-tax humana biotinilada es la forma soluble recombinante de una molécula del receptor unido a la membrana que ha sido utilizada en este ejemplo como una proteína control, y no se espera que interactúe con los compuestos.

- 20 El sistema BIAcore S51™, se utilizó para detectar los compuestos de los Ejemplos 1-4 anteriores. Un chip del sensor S en serie CM5 fue acoplado en el BIAcore S51™. La estreptavidina se acopló a la superficie carboximetil utilizando acoplamiento de la amina estándar. La superficie del chip fue activada con EDC 0.2M/NHS 0.05M, seguido por el enlace de la estreptavidina (0.25 mg/ml en acetato de sodio 10 mM pH 5.0) y la saturación de los sitios desocupados con etilendiamina 1M.

- 25 El chip del sensor BIAcore S51 tiene dos puntos del sensor separados para la inmovilización de las proteínas. hCD80-BT fue inmovilizado sobre la superficie cubierta con estreptavidina de un punto del sensor hasta una respuesta de aproximadamente 3000 RU se observó. Una proteína para controlar el enlace no-específico del compuesto fue inmovilizada en un segundo punto del sensor. La proteína control utilizada para estos experimentos fue una forma soluble, biotinilada de la proteína HLA humana.

- 30 Las series de diluciones de los compuestos (1000nM - 0.05nM) fueron preparadas en solución reguladora de corrida (10 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM, P20 al 0.005%; DMSO al 5%).

BIAcore S51™ se corrió a una velocidad de flujo de 30 µl/min utilizando solución reguladora de corrida. Los compuestos y soluciones de estándar de DMSO para la corrección de los datos para los efectos del solvente fueron inyectados. Los datos se registraron automáticamente y fueron analizados utilizando el software de Evaluación de BIAcore S51.

- 5 La interacción entre CD80 y el ligando de la proteína endógena (CD28) es altamente específica, pero relativamente débil, con un K_D de 4750 nM, y un constante de disociación mayor de 0.2 s^{-1} . Los compuestos de los Ejemplos 2,3,4,6,7 tienen gran afinidad y mayores tiempo de residencia en CD80 que CD28, que tiene K_{DS} de menos de 100nM, y constantes de disociación de 2×10^{-2} , indicando que las cinolinas serán capaces de competir efectivamente con el ligando endógeno. Las cinolinas no mostraron interacción detectable con la proteína control.

10 Referencias

Collins AV et al. (2002) Immunity 17, 201-210 " The interaction properties of costimulatory molecules revisited "

Inhibición de la producción de la interlequina-2 (IL-2) por células T Jurkat humanas.

Método

- 15 Células HumanRaji se dispensaron a una concentración de 2×10^5 células por pozo en medio RPMI-1640 suplementado con 10% de suero fetal bovino, 1% de penicilina/estreptomicina, 1% de glutamina (medio RPMI) en una placa de microtitulación de fondo redondo de 96-pozos. Los compuestos bajo investigación (disueltos en 100% de DMSO) se diluyeron a ocho veces la concentración final deseada en medio RPMI y se adiciona a la concentración final deseada para un volumen total de 200µl por pozo. Después de 20 minutos de incubación a 37°C, las células T Jurkat se adicionaron a una concentración de 2×10^5 células por pozo. El anticuerpo monoclonal para CD3 (UCHT1 , Sistemas R&D) se adicionó a los cultivos a una concentración final de 1µg por ml, y donde se indica, el anticuerpo monoclonal para CD28 (CD28.2, BD-Pharmingen) también se adicionó a una concentración de 2.5µg por ml. Las células se cultivaron a 37°C durante 5 horas, después de lo cual las placas se centrifugaron y los sobrenadantes se cultivaron por ensayo de ELISA IL-2 utilizando el kit Eli-pair IL-2 (DIACLONE Research, Besancon, France) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- 20
- 25 A modo de ejemplo, el compuesto del Ejemplo 2 (AV1142005) proporcionó un 65% de inhibición a 30mM.

Ensayo de Fluorescencia de Resolución Tardía Homogénea

Los ejemplos descritos anteriormente fueron probados en un Ensayo de Fluorescencia de Resolución Tardía Homogénea (HTRT) libre de célula para determinar su actividad como inhibidores de la interacción CD80-CD28.

- 30 En el ensayo, europio y alofocianina (APC) se asociaron con CD28 y CD80 indirectamente (a través de ligadores de anticuerpo) para formar un complejo, que lleva el europio y APC en la proximidad cercana para generar una señal. El complejo comprende las siguientes seis proteínas: etiqueta fluorescente 1, anticuerpo ligador 1, proteína de fusión CD28, proteína de fusión CD80, anticuerpo ligador 2, y etiqueta fluorescente 2. La tabla a continuación describe estos reactivos con mayor detalle.

Etiqueta fluorescente 1	IgG Anti-Rabbit marcado con Europio (1µg/ml)
Anticuerpo ligador 1	IgG Rabbit específico para el fragmento Fc de ratón (3µg/ml)
roteína de fusión CD28	Proteína de fusión fragmento Fc CD28-ratón (0.48µg/ml)
roteína de fusión CD80	Proteína de fusión fragmento Fab CD80-ratón (C215) (1.9µg/ml)
nticuerpo ligador 2	GaMκ-biotina: IgG de cabra biotinilado específico para cadena kappa de ratón (2µg/ml)
Etiqueta fluorescente 2	SA-APC: estreptavidina marcada con alofocianina (8µg/ml)

En la formación del complejo, europio y APC se llevaron en proximidad y una señal se genera.

- 35 La interacción no-específica se midió sustituyendo un fragmento Fab de ratón (C215), para la proteína de fusión fragmento Fab de ratón CD80 (1.9µg/ml). El ensayo se llevó a cabo en placas negras de 384 pozos en un volumen final de 30µl. Solución reguladora de ensayo: Tris-HCl 50mM, NaCl 150mM pH7.8, que contiene 0.1% de BSA (peso/vol.) se adiciona justo antes del uso.

- 40 Los compuestos se adicionaron a los reactivos anteriores en una serie de concentraciones que oscila entre 100µM - 1.7nM. La reacción se incubó durante 4 horas a temperatura ambiente. Las mediciones dobles se hicieron utilizando

un Contador Wallac Victor 1420 Multilabel. Primera medición: excitación 340nm, emisión 665nm, retraso 50µs, tiempo de ventana 200µs. segunda medición: excitación 340nm, emisión 615nm, retraso 50µs, tiempo de ventana 200µs. Los recuentos se corrigieron automáticamente para fluorescencia cruzada, apagado y fondo. Las actividades EC50 de los compuestos probados se registraron como:

5 **EC50: * = >10 µM, ** = 1-10 µM, *** = <1 µM.**

Los compuestos de los Ejemplos 1-8, tuvieron las siguientes actividades en el ensayo HTRF descrito anteriormente:

Ejemplo 1 *

Ejemplo 2 ***

Ejemplo 3 ***

10 Ejemplo 4 ***

Ejemplo 5 *

Ejemplo 6 ***

Ejemplo 7 ***

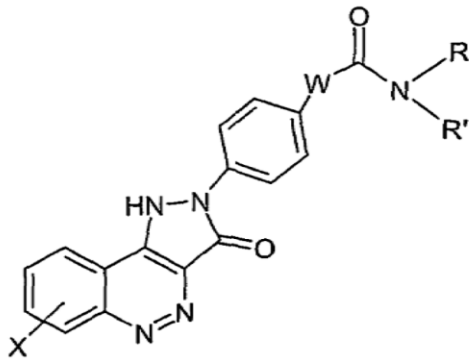
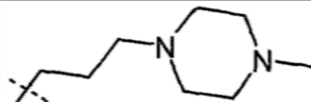
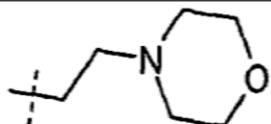
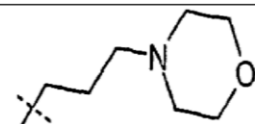
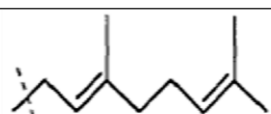
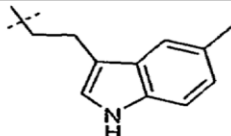
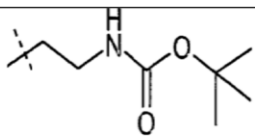
Ejemplo 8 ***

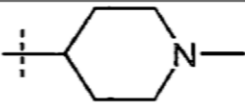
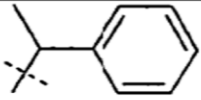
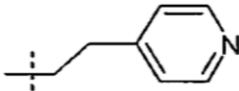
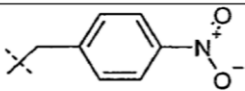
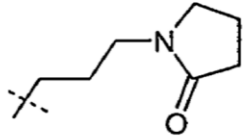
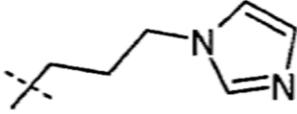
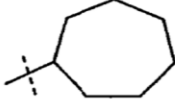
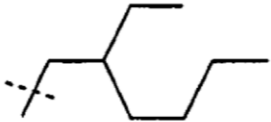
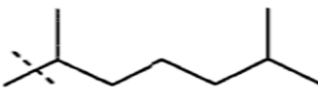
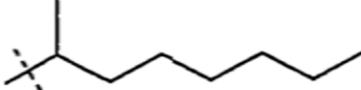
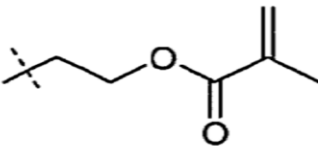
15 Ejemplo 9 **

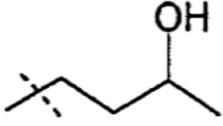
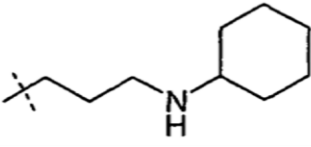
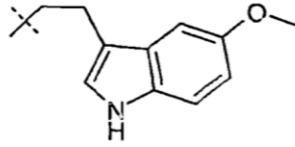
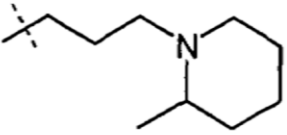
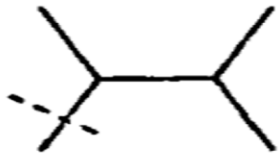
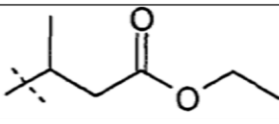
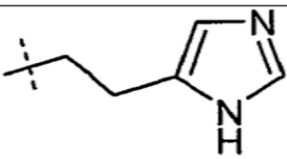
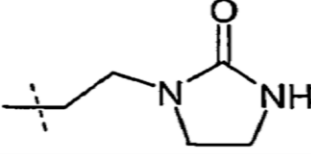
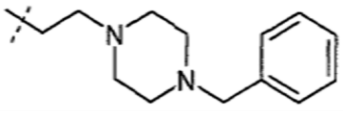
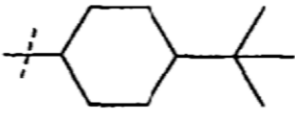
Ejemplos Adicionales

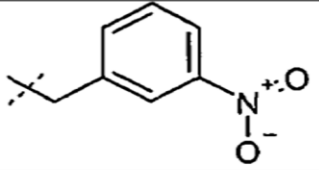
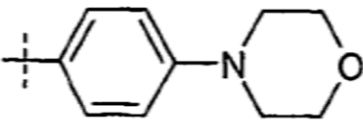
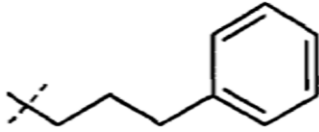
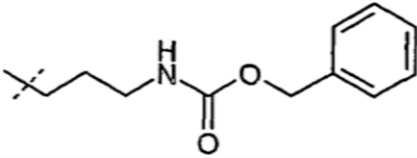
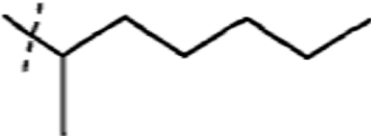
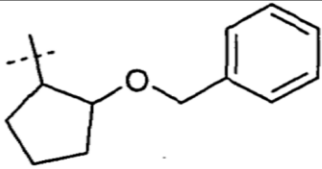
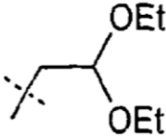
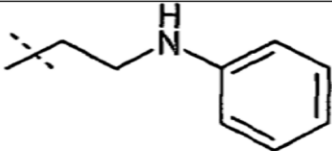
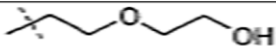
Otros ejemplos de los compuestos de la invención se sintetizaron mediante métodos análogos a aquellos de los Ejemplos 1-8 citados anteriormente. Las estructuras de los compuestos sintetizados se muestran en la siguiente Tabla, junto con sus actividades en el ensayo HTRF descrito anteriormente.

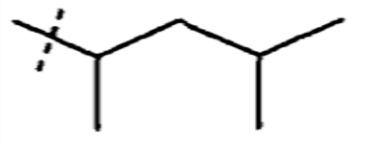
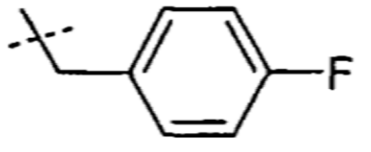
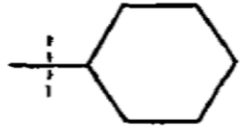
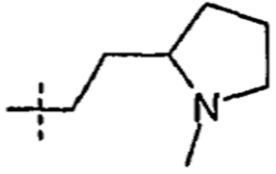
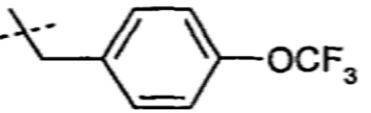
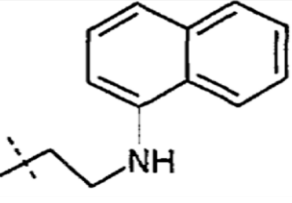
Tabla

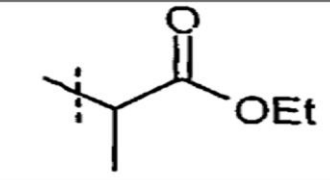
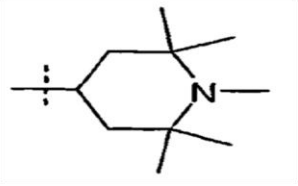
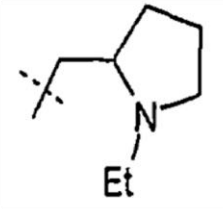
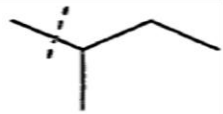
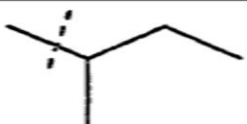
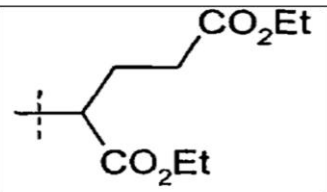
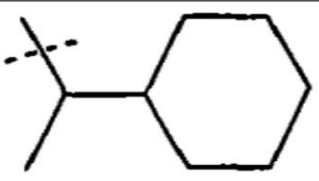
						
Ejem plo No.	X	W	R	R'	MS MH+	Activ idad
9a.	H	-	CH ₂ CH ₂ OMe	H	364.2	**
10.	H	-		H	446.2	***
11.	H	-	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	377.1	***
12.	H	-		H	419.1	***
13.	H	-		H	433.1	***
14.	H	-		H	442.0	*
15.	H	-	Ph	H	382.0	**
16.	H	-		H	463.0	*
17.	H	-		H	448.8	**

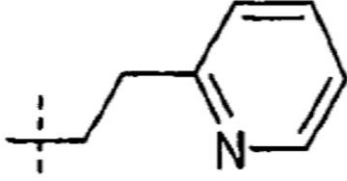
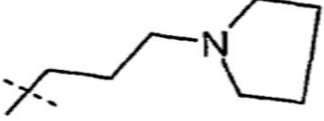
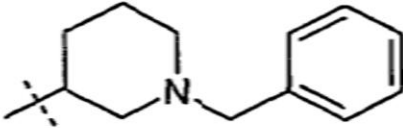
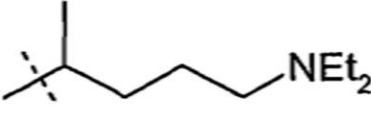
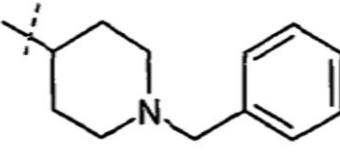
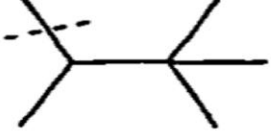
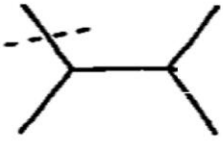
18.	H	-		H	403.1	***
19.	H	-		H	410.0	*
20.	H	-		H	411.0	***
21.	H	-		H	441.2	**
22.	H	-		H	431.1	**
23.	H	-		H	414.1	***
24.	H	-		H	402.2	**
25.	H	-		H	418.4	*
26.	H	-		H	418.2	***
27.	H	-		H	418.2	*
28.	H	-		H	417.9	**

29.	H	-		H	378.0	***
30.	H	-		H	445.2	***
31.	H	-		H	479.0	**
32.	H	-		H	445.2	***
33.	H	-		H	376.2	**
34.	H	-		H	420.0	**
35.	H	-		H	400.0	**
36.	H	-		H	418.0	*
37.	H	-		H	508.1	***
38.	H	-		H	444.2	*

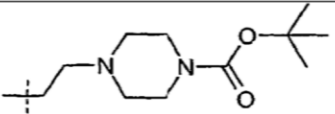
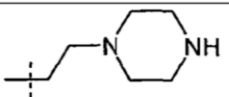
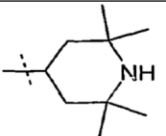
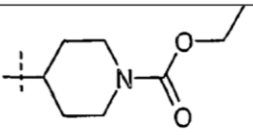
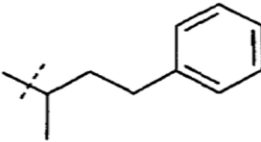
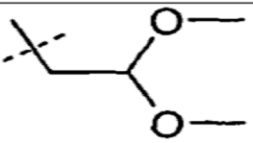
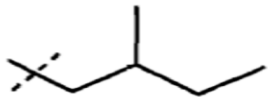
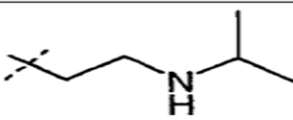
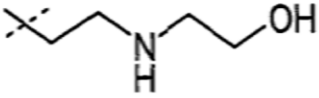
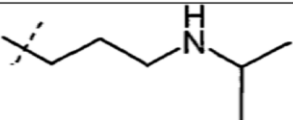
39.	H	-		H	441.1	**
40.	H	-		H	467.2	**
41.	H	-		H	424.1	**
42.	H	-		H	496.9	**
43.	H	-		H	404.1	**
44.	H	-		H	480.0	*
45.	H	-		H	421.8	**
46.	H	-	Et	H	334.2	***
47.	H	-		H	425.0	***
48.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	363.0	***
49.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	377.1	***
50.	H	-		H	394.2	**

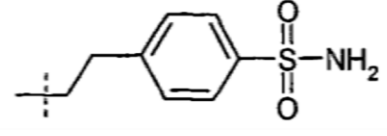
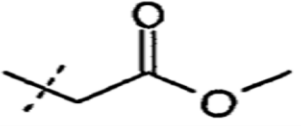
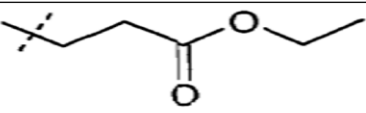
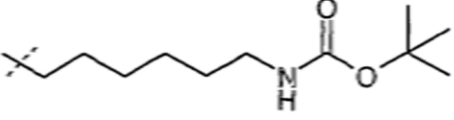
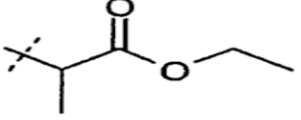
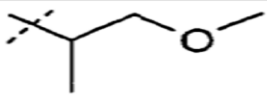
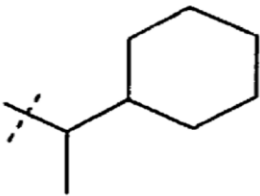
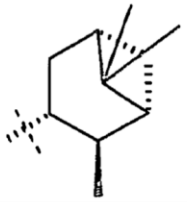
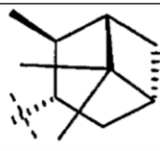
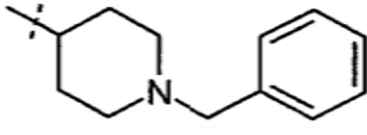
51.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	H	350.2	***
52.-	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHMe}$	H	377.2	***
53.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OiPr}$	H	406.2	***
54.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	H	377.2	***
55.	H	-		H	390.2	***
56.	H	-		H	414.1	**
57.	H	-		H	388.2	**
58.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{nBu})_2$	H	475.2	***
59.	H	-	ciclododecil	H	472.2	*
60.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NEt}_2$	H	405.1	***
61.	H	-		H	417.2	***
62.	H	-		H	402.2	**
63.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OPh}$	H	426.0	**
64.	H	-		H	480.2	**
65.	H	-		H	475.2	**

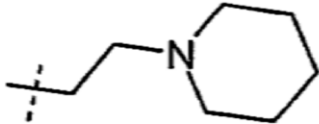
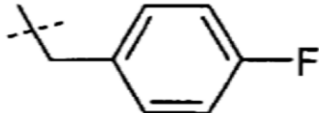
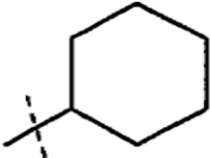
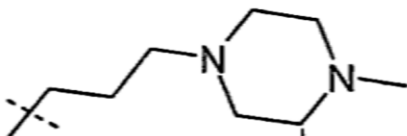
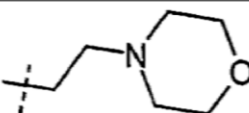
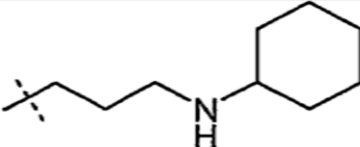
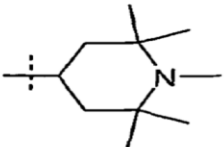
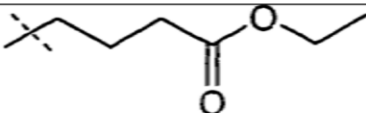
66.	H	-		H	406.1	**
67.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}_n\text{Bu}$	H	420.0	***
68.	H	-		H	459.3	***
69.	H	-		H	417.3	***
70.	H	-	 (Isómero R)	H	362.3	***
71.	H	-	 (Isómero S)	H	362.3	***
72.	H	-	$\text{CH}(\text{Et})_2$	H	376.3	**
73.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$	H	438.4	**
74.	H	-		H	492.2	**
75.	H	-		H	416.3	**

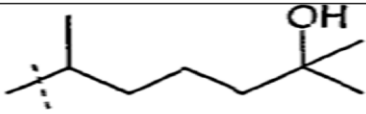
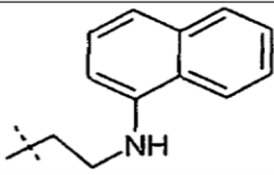
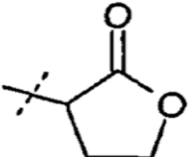
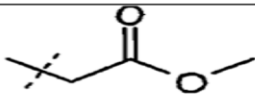
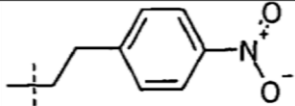
76.	H	-		H	411.2	**
77.	H	-	CH ₂ CH ₂ SEt	H	394.2	***
78.	H	-	Ciclopropil	H	346.2	**
79.	H	-		H	417.3	***
80.	H	-		H	479.3	***
81.	H	-		H	447.2	***
82.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃)CH ₃	H	376.2	**
83.	H	-	Ciclopropil	H	374.2	**
84.	H	-	n-Propil	H	348.2	**
85.	H	-	CH ₂ CH ₂ tBu	H	390.3	**
86.	H	-		H	479.3	***
87.	H	-	CH ₂ cicloheptil	H	416.4	*
88.	H	-		H	390.3	**
89.	H	-		H	376.3	***

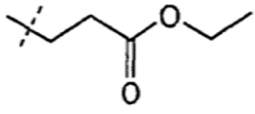
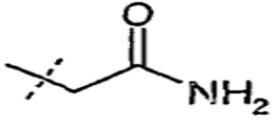
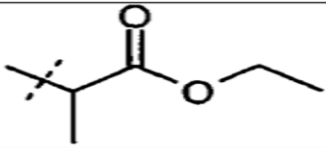
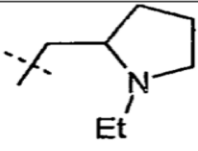
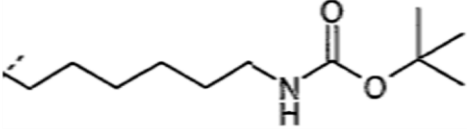
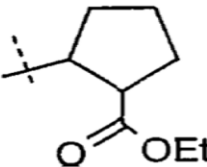
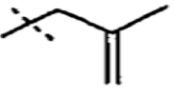
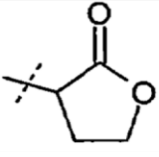
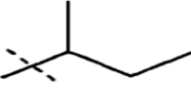
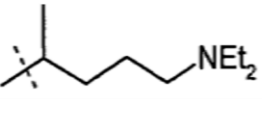
90.	H	-		H	480.2	**
91.	H	-		H	477.1	***
92.	H	-		H	432.4	*
93.	H	-		H	420.1	**
94.	H	-		H	465.3	***
95.	H	-		H	411.4	***
96.	H	-		H	404.3	**
97.	H	-		H	463.0	**
98.	H	-		H	465.4	**
99.	H	-		H	434.4	**
100.	H	-		H	400.3	*

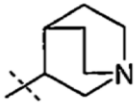
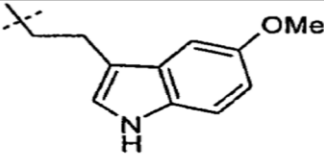
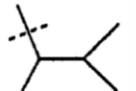
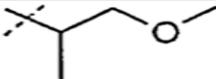
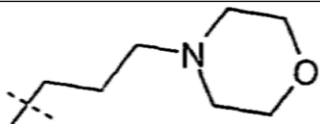
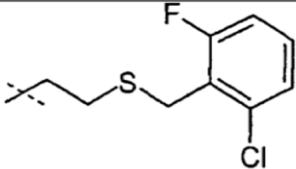
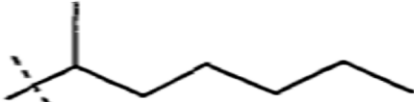
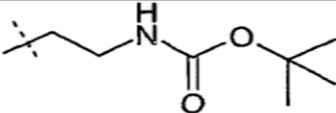
101.	H	-		H	518.4	***
102.	H	-		H	418.4	**
103.	H	-		H	445.4	***
104.	H	-		H	461.4	**
105.	H	-		H	438.4	*
106.	H	-		H	394.3	**
107.	H	-		H	376.3	**
108.	H	-		H	391.4	***
109.	H	-		H	393.4	***
110.	H	-		H	405.5	***
111.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	364.4	**
112.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	392.4	***
113.	H	-	n-Hexil	H	390.4	**

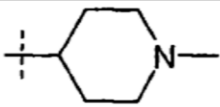
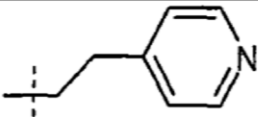
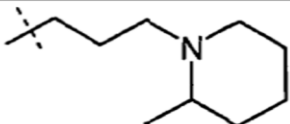
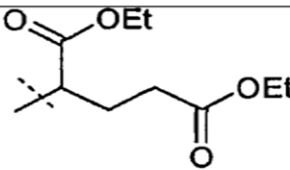
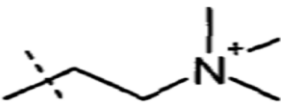
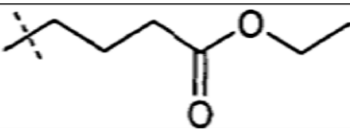
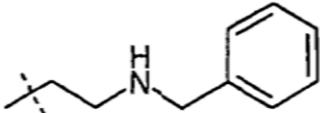
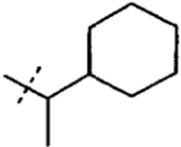
114.	H	-		H	489.4	**
115.	H	-		H	378.4	**
116.	H	-		H	406.4	*
117.	H	-		H	505.5	**
118.	H	-		H	406.4	**
119.	H	-		H	378.4	**
120.	H	-		H	416.4	**
121.	H	-		H	442.4	**
122.	H	-		H	442.4	*
123.	H	NH		H	494.3	**

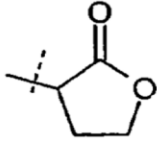
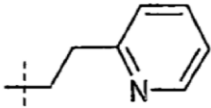
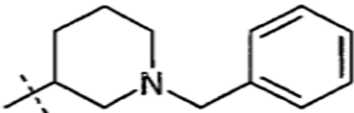
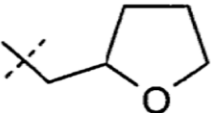
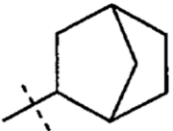
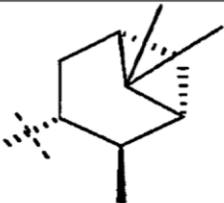
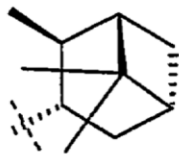
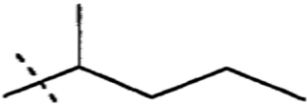
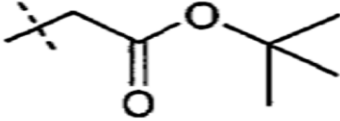
124.	H	NH		H	405.3	*
125.	H	NH		H	432.3	**
126.	H	NH		H	429.3	*
127.	H	NH		H	403.3	*
128.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OEt	H	407.2	**
129.	H	NH		H	461.3	***
130.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	392.2	***
131.	H	NH	alil	H	361.3	***
132.	H	NH		H	434.3	***
133.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OMe	H	393.2	**
134.	H	NH		H	460.3	***
135.	H	NH		H	474.3	**
136.	H	NH		H	420.1	*

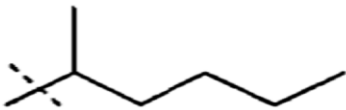
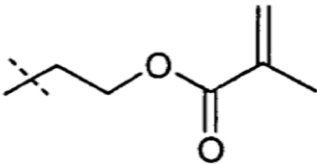
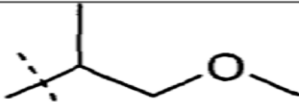
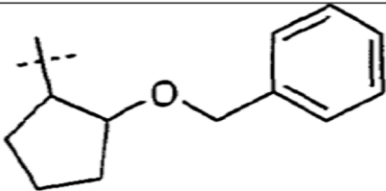
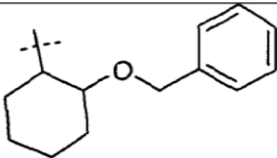
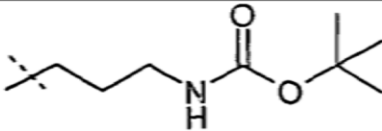
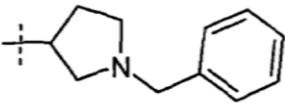
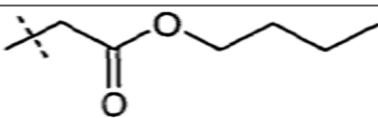
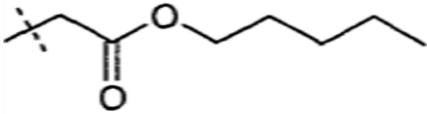
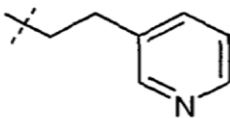
137.	H	NH		H	449.2	**
138.	H	NH		H	377.3	**
139.	H	NH	iPr	H	363.3	**
140.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OMe	H	379.3	**
141.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	406.2	***
142.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	378.2	***
143.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	392.2	***
144.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	406.2	***
145.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	H	409.2	***
146.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OH	H	365.2	***
147.	H	NH	CH ₂ CH ₂ Ph	H	425.3	**
148.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	420.2	***
149.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OiPr	H	421.2	**
150.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	379.2	***
151.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	407.2	**
152.	H	NH		H	490.1	*
153.	H	NH		H	405.3	**
154.	H	NH		H	393.1	**
155.	H	NH		H	470.3	**

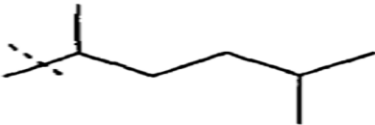
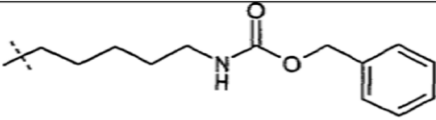
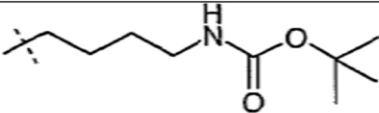
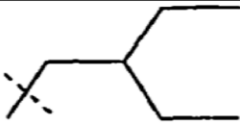
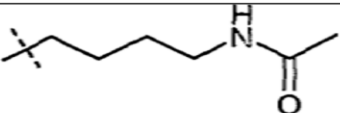
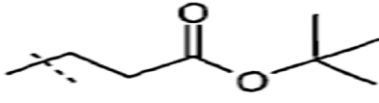
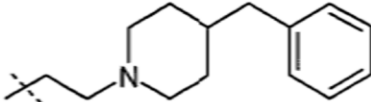
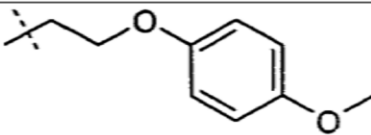
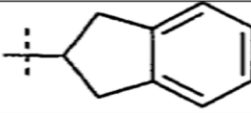
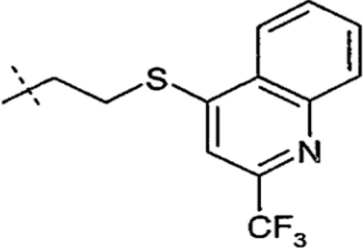
156.	H	NH		H	421.2	**
157.	H	NH		H	378.1	**
158.	H	NH		H	421.1	**
159.	H	NH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}_{12}\text{H}_{25}$	H	547.3	***
160.	H	NH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OnBu}$	H	435.2	*
161.	H	NH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SMe}$	H	409.2	**
162.	H	NH		H	432.3	***
163.	H	NH		H	519.9	**
164.	H	NH		H	461.2	*
165.	H	NH		H	375.2	**
166.	H	NH		H	405.2	**
167.	H	NH		H	377.3	**
168.	H	NH		H	462.4	***

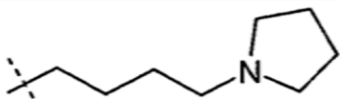
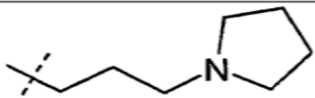
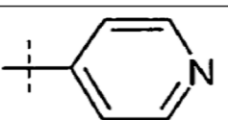
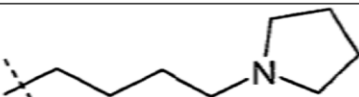
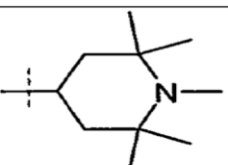
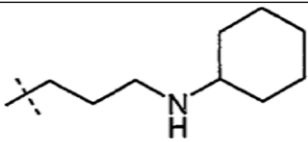
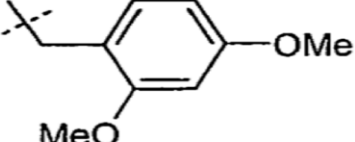
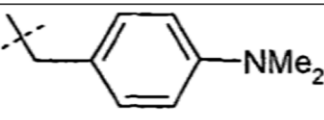
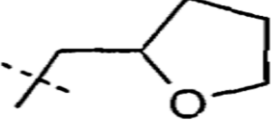
169.	H	NH		H	430.3	***
170.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CHO	H	377.2	*
171.	H	NH		H	393.3	***
172.	H	NH		H	494.3	**
173.	H	NH		H	391.3	**
174.	H	NH		H	393.2	**
175.	H	NH		H	435.2	**
176.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	419.4	***
177.	H	NH	nBu	H	377.4	**
178.	H	NH	CH ₂ CH ₂ SMe	H	395.3	**
179.	H	NH		H	448.4	***
180.	H	NH		H	523.3	*
181.	H	NH		H	419.4	*
182.	H	NH		H	464.3	**

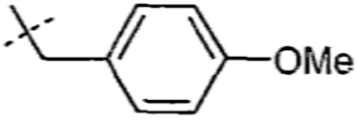
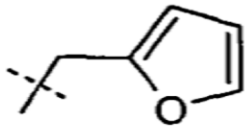
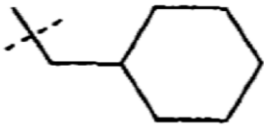
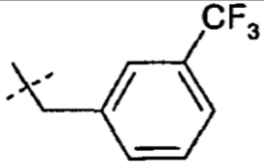
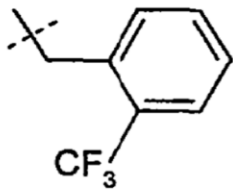
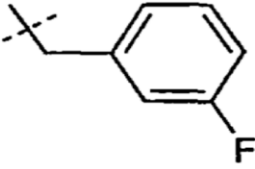
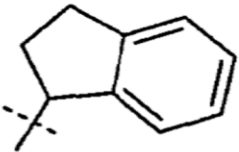
183.	H	NH		H	418.4	***
184.	H	NH		H	426.3	**
185.	H	NH		H	434.4	***
186.	H	NH		H	460.4	***
187.	H	NH	CH(Et) ₂	H	391.4	**
188.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph	H	453.4	*
189.	H	NH		H	507.5	**
190.	H	NH		H	419.4	**
191.	H	NH		H	406.4	??
192.	H	NH		H	435.4	*
193.	H	NH		H	454.5	****
194.	H	NH		H	431.5	*

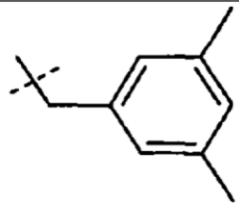
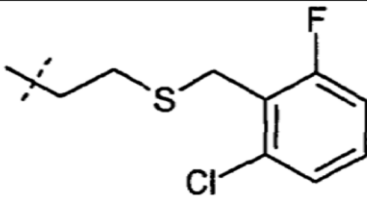
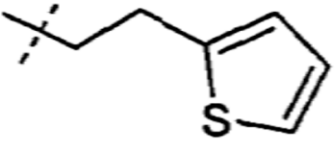
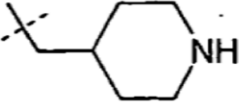
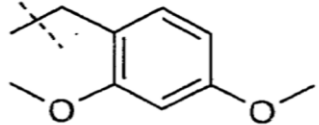
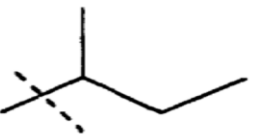
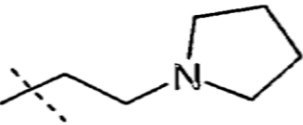
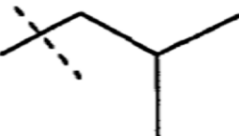
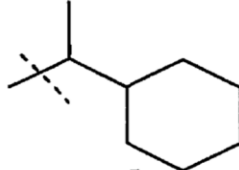
195.	H	NH		H	405.4	**
196.	H	NH		H	426.4	**
197.	H	NH		H	494.5	**
198.	H	NH		H	405.4	***
199.	H	NH		H	415.5	
200.	H	NH	CH ₂ CH ₂ SCH ₂ Ph	H	471.4	*
201.	H	NH		H	457.5	*
202.	H	NH		H	457.4	*
203.	H	NH		H	391.4	*
204.	H	NH	CH ₂ cicloheptil	H	431.5	*
205.	H	NH		H	435.4	*
206.	H	NH	CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	476.5	***

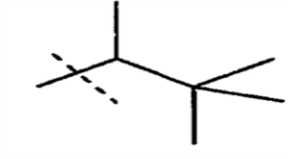
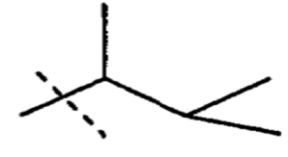
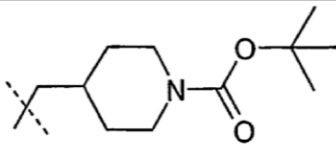
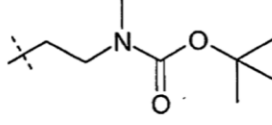
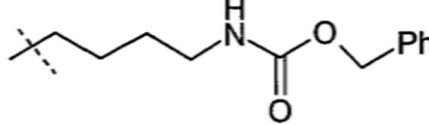
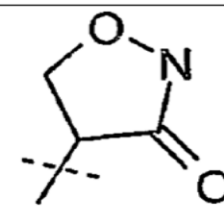
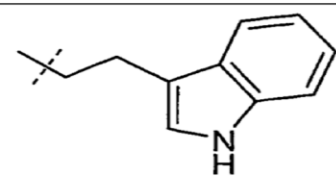
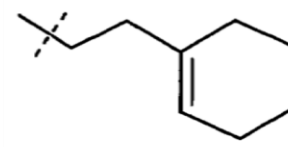
207.	H	NH		H	405.4	**
208.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OPh	H	441.4	**
209.	H	NH		H	433.4	*
210.	H	NH		H	393.4	***
211.	H	NH		H	495.5	*
212.	H	NH		H	509.4	*
213.	H	NH		H	478.5	**
214.	H	NH		H	480.4	***
215.	H	NH		H	435.4	*
216.	H	NH		H	449.4	*
217.	H	NH		H	426.4	**

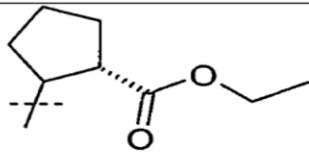
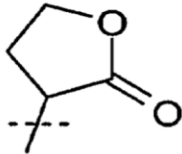
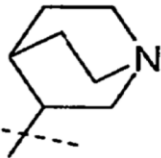
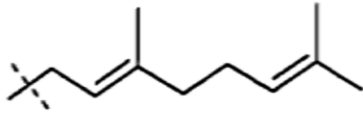
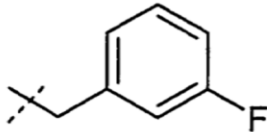
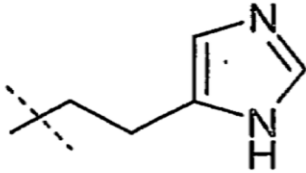
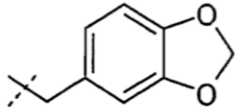
218.	H	NH		H	419.5	*
219.	H	NH		H	540.5	**
220.	H	NH		H	492.5	*
221.	H	NH		H	405.5	*
222.	H	NH		H	434.4	***
223.	H	NH		H	449.4	**
224.	H	NH		H	522.5	***
225.	H	NH		H	471.4	*
226.	H	NH		H	437.4	*
227.	H	NH		H	576.4	*

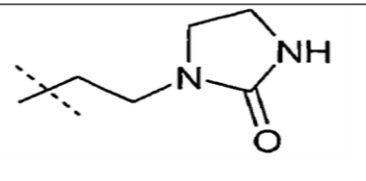
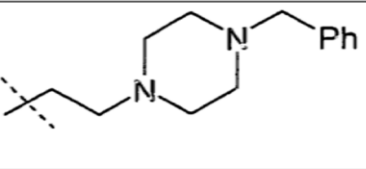
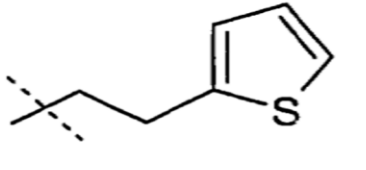
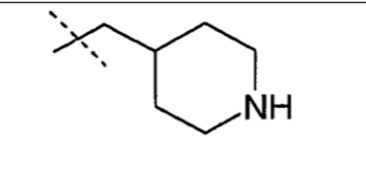
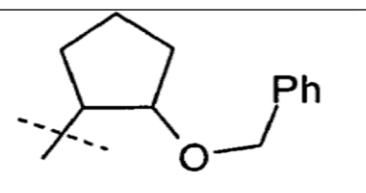
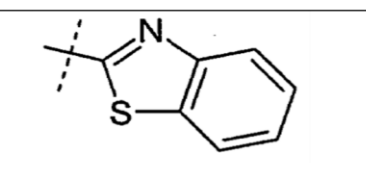
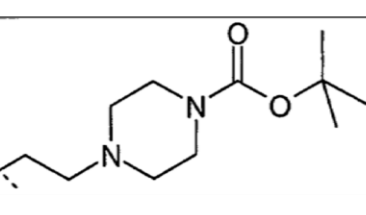
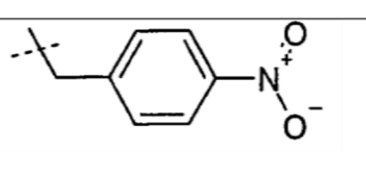
228.	H	NH		H	446.4	***
229.	H	NH		H	432.4	***
230.	H	NH		H	383.3	*
231.	H	NH		H	429.4	***
232.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	409.4	***
233.	6-F	-		H	449.4	***
234.	6-F	-		H	477.4	***
235.	6-F	-		H	463.4	***
236.	H	-		H	456.4	*
237.	H	-		H	439.4	***
238.	H	-		H	390.3	**
239.	H	-	cicloButil	H	360.4	**

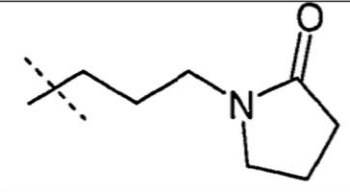
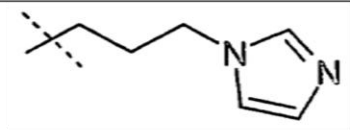
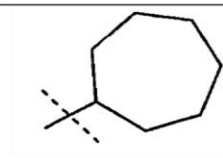
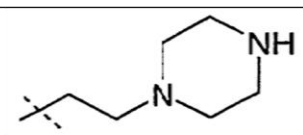
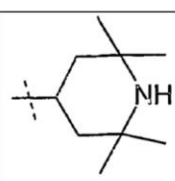
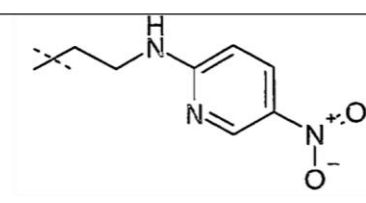
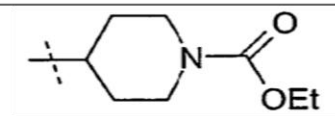
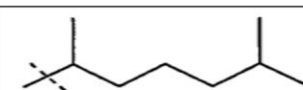
240.	H	-		H	426.4	***
241.	H	-	n-Butil	H	362.4	**
242.	H	-		H	386.4	***
243.	H	-	iPr	H	348.4	***
244.	H	-		H	402.4	**
245.	H	-	n-Heptil	H	404.4	**
246.	H	-	Alil	H	346.3	***
247.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OMe	H	378.4	***
248.	H	-		H	464.3	*
249.	H	-		H	464.3	*
250.	H	-		H	414.3	***
251.	H	-	n-Pentil	H	376.4	*
252.	H	-		H	422.3	*

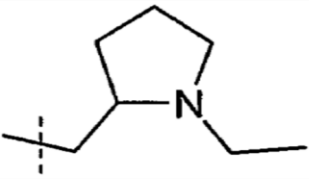
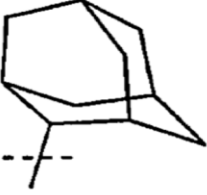
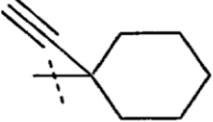
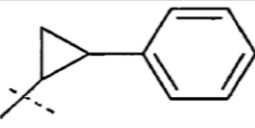
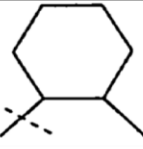
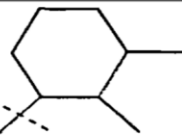
253.	H	-		H	442.3	*
254.	H	-		H	508.2	*
255.	H	-		H	416.3	*
256.	H	-		H	403.4	**
257.	H	-		H	456.4	*
258.	H	-		H	362.3	**
259.	H	-		H		***
260.	H	-		H		**
261.	H	NH		H	431.5	*

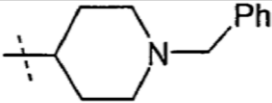
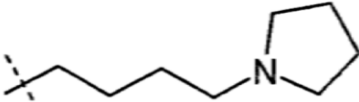
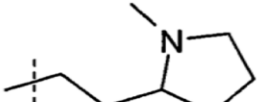
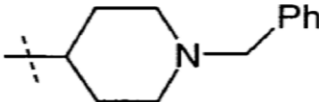
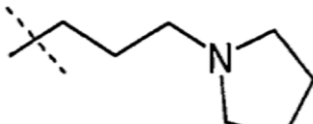
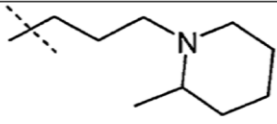
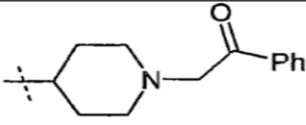
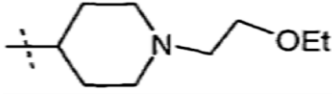
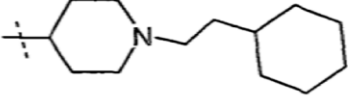
262.	H	NH		H	405.4	*
263.	H	NH		H	391.4	**
264.	H	NH		H	518.5	*
265.	H	NH		H		*
266.	H	-		H	511.4	***
267.	H	-		H	391.4	**
268.	H	-		H	449.4	**
269.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	391.4	***
270.	H	-	CH ₂ CH ₂ Ph	H	410.4	*
271.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	405.4	***
272.	H	-		H	414.4	*
273.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OC ₁₂ H ₂₅	H	532.6	*

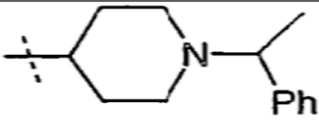
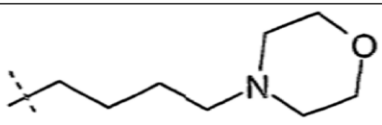
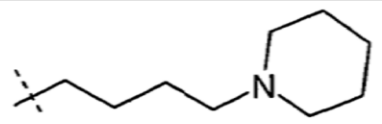
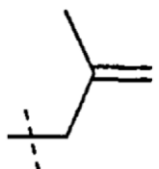
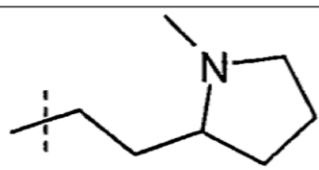
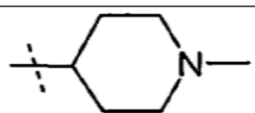
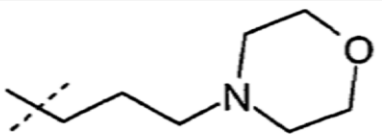
274.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$	H	394.4	***
275.	H	-		H	446.4	**
276.	H	-	$\text{CH}(\text{Et})\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$	H	468.4	**
277.	H	-		H	390.3	**
278.	H	-		H	415.4	***
279.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHnBu}$	H	405.4	***
280.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NEt}_2$	H	448.5	***
281.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{Ph}$	H	439.4	***
282.	H	NH	Et	H	349.4	***
283.	H	NH		H	457.4	*
284.	H	NH		H	429.3	*
285.	H	NH		H	415.3	***
286.	H	NH		H	455.3	*

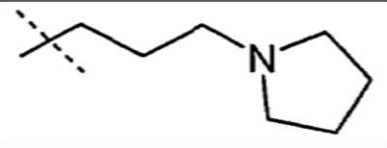
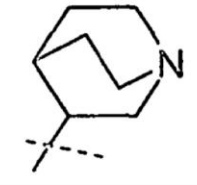
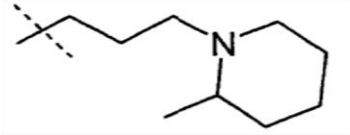
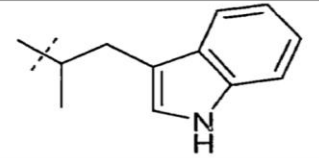
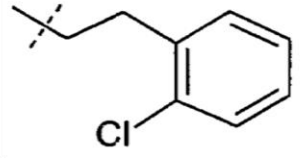
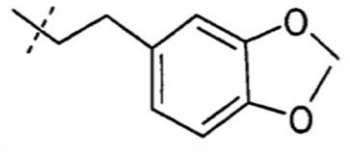
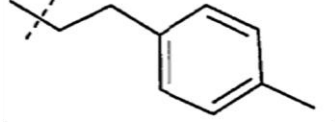
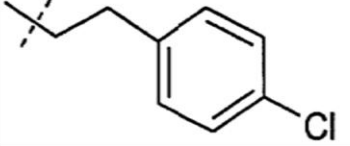
287.	H	NH		H	433.4	***
288.	H	NH		H	522.5	***
289.	H	NH		H	431.3	**
290.	H	NH		H	418.4	***
291.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph	H	439.4	*
292.	H	NH		H	495.4	*
293.	H	NH		H	454.3	*
294.	H	NH		H	533.5	**
295.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHCH ₃	H	392.4	***
296.	H	NH		H	456.4	*

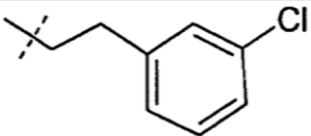
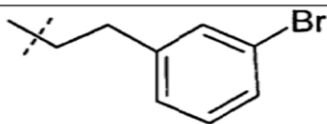
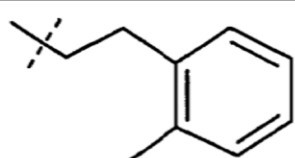
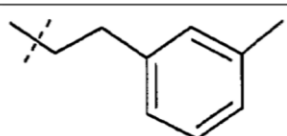
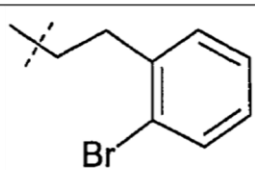
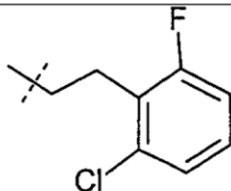
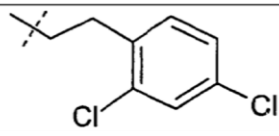
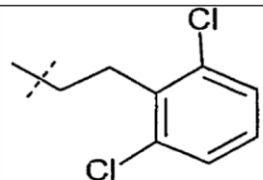
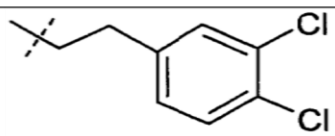
297.	H	NH		H	446.4	**
298.	H	NH		H	429.4	***
299.	H	NH		H	417.5	*
300.	H	NH		H	433.5	***
301.	H	NH		H	460.5	***
302.	H	NH		H	486.4	*
303.	H	NH		H	476.4	*
304.	H	NH	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ Ph	H	453.4	*
305.	H	NH		H	433.5	*
306.	H	NH	CH ₂ CH(OMe) ₂	H	409.4	***
307.	H	NH	CH ₂ CH(OEt) ₂	H	437.5	**
308.	H	NH	CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	391.4	**
309.	H	NH	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	377.4	**

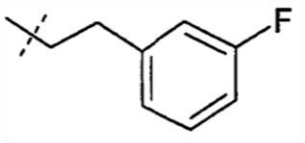
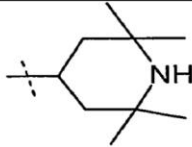
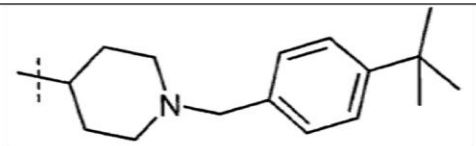
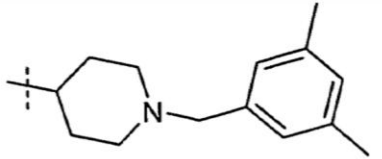
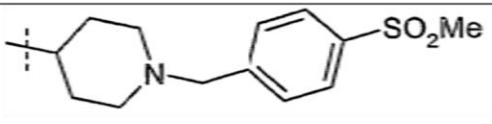
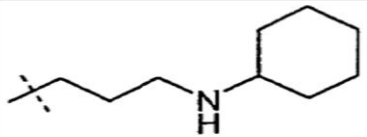
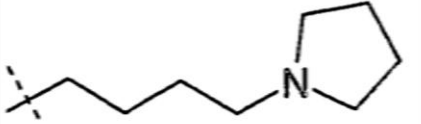
310.	H	NH		H	432.4	***
311.	H	-	CH ₂ CHF ₂	H	370.4	***
312.	H	-	CH ₂ CH ₂ CF ₃	H	402.4	***
313.	H	-		H	440.5	**
314.	H	-		H	412.5	***
315.	H	-		H	422.5	**
316.	H	-		H	402.5	**
317.	H	-		H	416.5	**
318.	H	-		H	442.5	***
319.	H	-	tBu	H	362.5	***
320.	H	-	CH ₂ Si(CH ₃) ₃	H	392.5	*
321.	H	-	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	376.5	***
322.	H	-	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	390.5	***

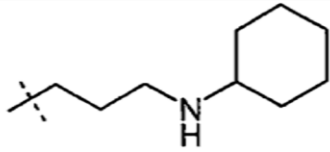
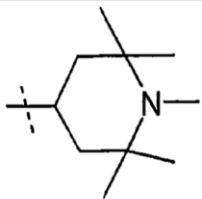
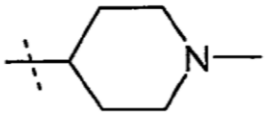
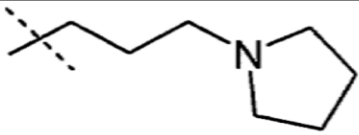
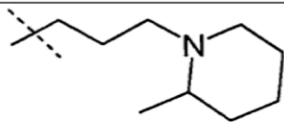
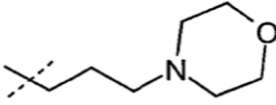
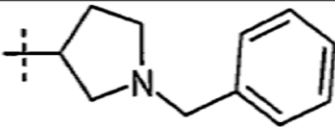
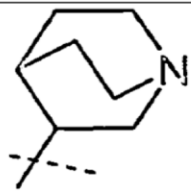
323.	6-F	-		H	497.6	***
324.	6-F	NH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	H	410.5	***
325.	8-F	-		H	449.3	***
326.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	423.3	***
327.	8-F	-		H	435.3	***
328.	8-F	-		H	497.3	***
329.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Bu})_2$	H	493.4	***
330.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	437.3	***
331.	8-F	-		H	435.5	***
332.	8-F	-		H	463.3	***
333.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_3$	H	378.2	***
334.	6-F	-		H	525.3	***
335.	6-F	-		H	479.3	***
336.	6-F	-		H	517.4	***

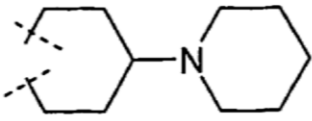
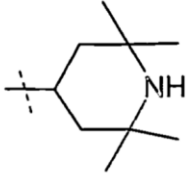
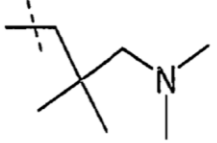
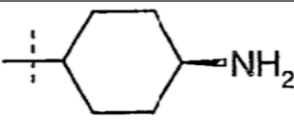
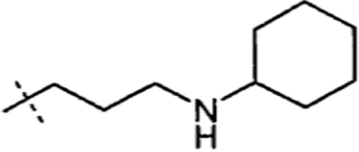
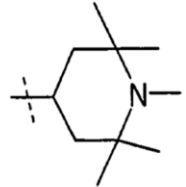
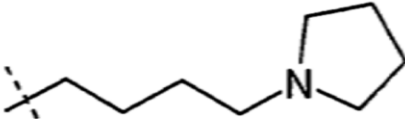
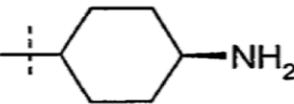
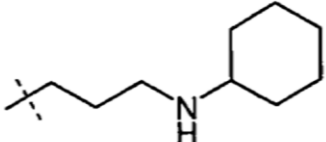
337.	6-F	-		H	511.3	***
338.	H	-		H	447.3	***
339.	H	-		H	445.3	***
340.	6-F	-		H	378.2	***
341.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHnPr}$	H	409.3	***
342.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	423.3	***
343.	6-F	-		H	435.3	***
344.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHnBu}$	H	423.3	***
345.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{nBu})_2$	H	493.4	***
346.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	437.3	***
347.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{Ph}$	H	457.3	***
348.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHipr}$	H	423.3	***
349.	6-F	-		H	421.3	***
350.	6-F	-		H	451.3	***
351.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	H	395.3	***

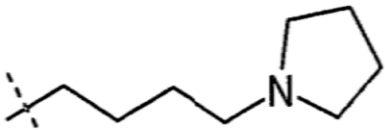
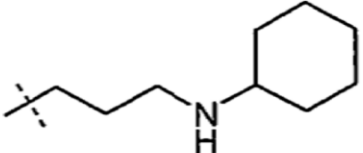
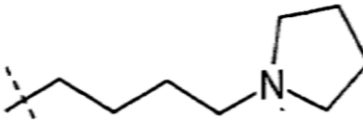
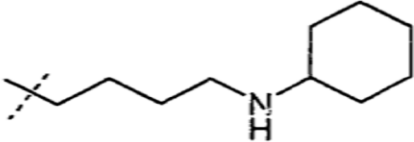
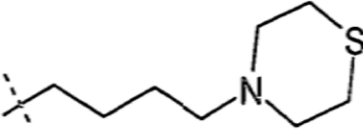
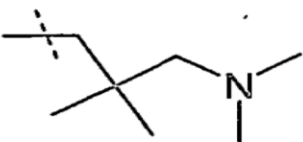
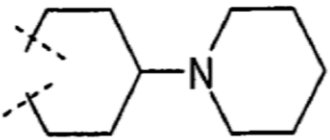
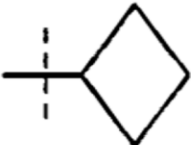
352.	6-F	-		H	435.3	***
353.	6-F	-		H	433.3	***
354.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OnBu	H	438.3	***
355.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	395.3	***
356.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	381.3	***
357.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	395.3	***
358.	6-F	-		H	463.4	***
359.	6-F	-		H	481.3	***
360.	6-F	-		H	462.2	**
361.	6-F	-		H	488.3	***
362.	6-F	-		H	442.3	**
363.	6-F	-		H	462.2	**

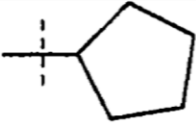
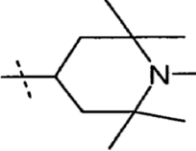
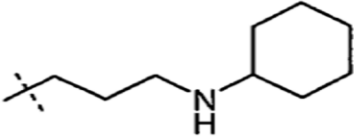
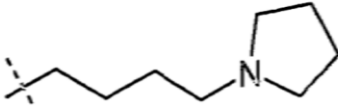
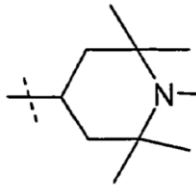
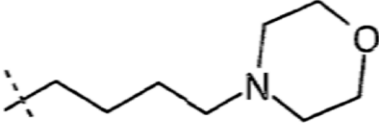
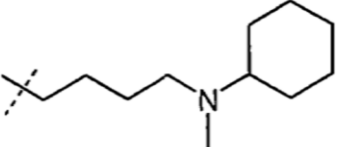
364.	6-F	-		H	462.2	**
365.	6-F	-		H	506.2, 508.2	*
366.	6-F	-		H	442.3	**
367.	6-F	-		H	442.3	**
368.	6-F	-		H	506.2, 508.2	**
369.	6-F	-		H	480.2	**
370.	6-F	-		H	496.2	**
371.	6-F	-		H	496.2	**
372.	6-F	-		H	496.2	**

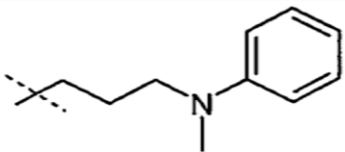
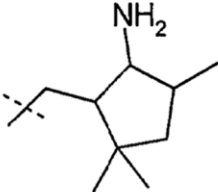
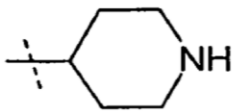
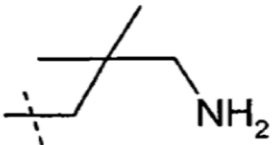
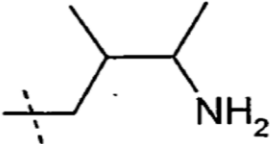
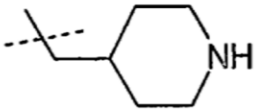
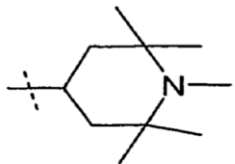
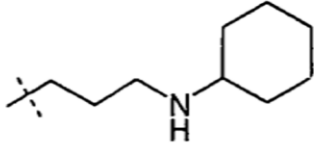
373.	6-F	-		H	446.3	**
374.	6-F	-		H	463.3	***
375.	6-F	-	tBu	H	380.3	***
376.	6-F	-	CH ₂ CHF ₂	H	388.2	***
377.	6-F	-	CH ₂ CH=CH ₂	H	364.2	***
378.	6-F	-		H	553.4	***
379.	6-F	-		H	524.4	**
380.	6-F	-		H	575.3	***
381.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	409.3	***
382.	8-F	-		H	463.3	***
383.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	409.3	***
384.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ NHBu	H	423.3	***
385.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	423.3	***
386.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	396.3	***
387.	9-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	409.2	***
388.	9-F	-		H	449.2	***

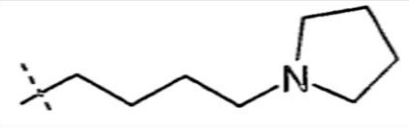
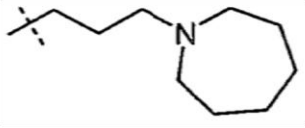
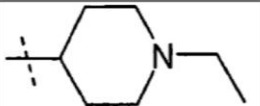
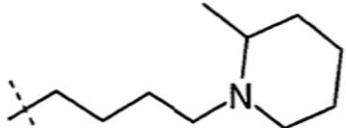
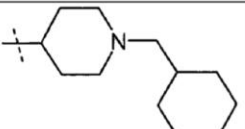
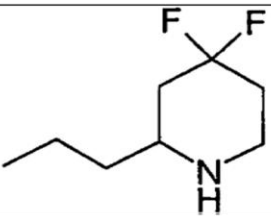
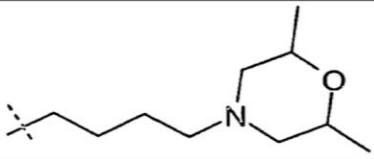
389.	9-F	-		H	463.3	***
390.	9-F	-		H	477.3	***
391.	9-F	-		H	421.2	***
392.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	437.2	***
393.	9-F	-		H	435.2	***
394.	9-F	-		H	463.2	***
395.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}i\text{Pr}$	H	423.2	***
396.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHMe}$	H	395.2	***
397.	9-F	-		H	451.2	***
398.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{nBu})_2$	H	493.3	***
399.	9-F	-		H	483.2	***
400.	9-F	-	tBu	H	380.2	***
401.	9-F	-		H	433.2	***

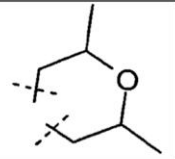
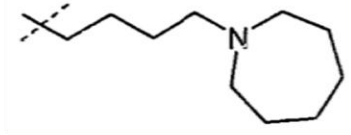
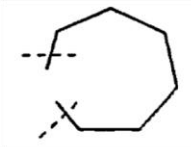
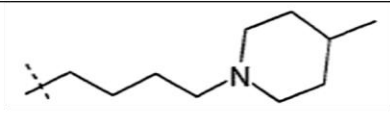
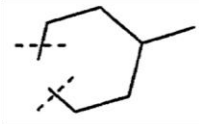
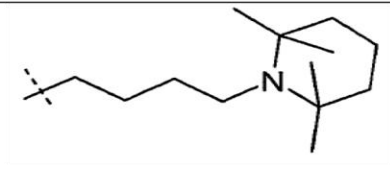
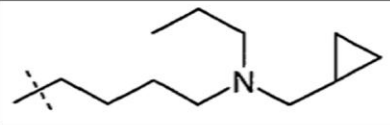
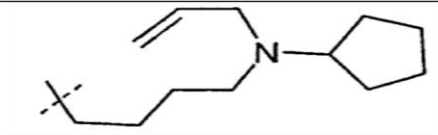
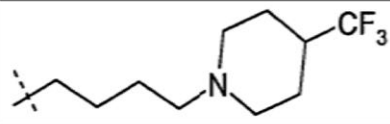
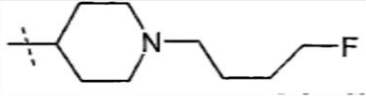
402.	9-F	-			475.2	**
403.	9-F	-		H	463.3	***
404.	9-F	-		H	437.2	***
405.	9-F	-		H	421.2	***
406.	8-Me	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	405.3	***
407.	8-Me	-		H	459.3	***
408.	8-Me	-		H	473.4	***
409.	8-Me	-		H	445.3	***
410.	6-F	-		H	421.3	***
411.	6-Cl	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	425.3	***
412.	6-Cl	-		H	479.2	***

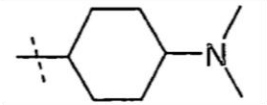
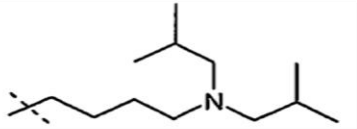
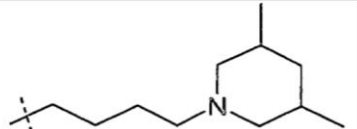
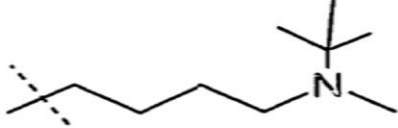
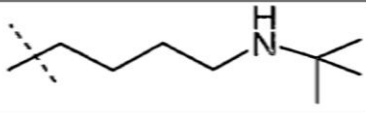
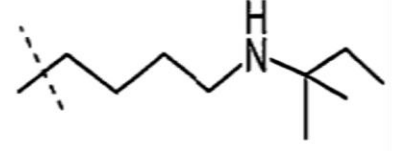
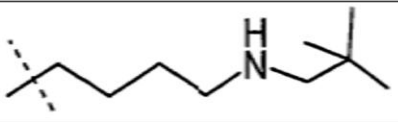
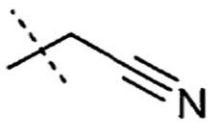
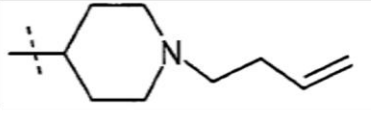
413.	6-Cl	-		H	465.3	***
414.	6,8-diF	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	427.3	***
415.	6,8-diF	-		H	481.3	***
416.	6,8-diF	-		H	467.2	***
417.	6-F	-		H		***
418.	8-MeO	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHMe}$	H	407.2	***
419.	6-F	-		H	481.2	***
420.	6-F	-		H	437.2	***
421.	6-F	-			475.2	**
422.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$	H	456.1	***
423.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$	H	420.1	***
424.	6-F	-		H	378.1	***

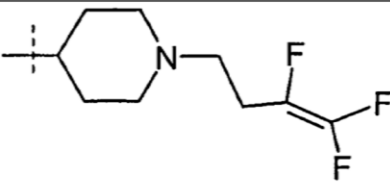
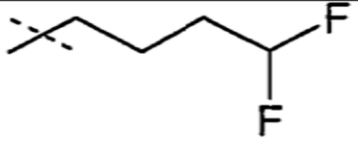
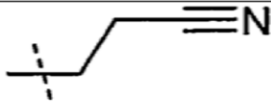
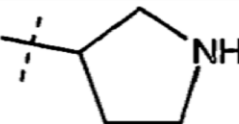
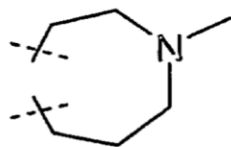
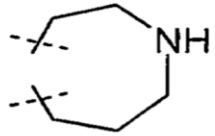
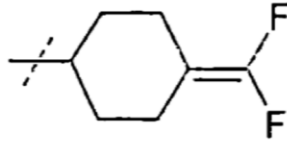
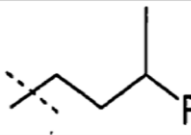
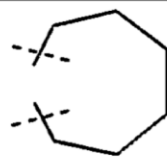
425.	6-F	-		H	392.2	***
426.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ F	H	370.1	***
427.	8-F	-		H	477.3	***
428.	6,9-diF	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	413.2	***
429.	6,9-diF	-		H	481.3	***
430.	6,9-diF	-		H	467.2	***
431.	6,9-diF	-		H	495.3	***
432.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Et)Me	H	437.2	***
433.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	H	451.3	***
434.	6-F	-		H	465.2	***
435.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me)CH ₂ CH=CH ₂	H	449.2	***
436.	6-F	-		H	491.4	***
437.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ F	H	398.2	***

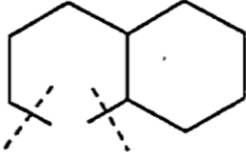
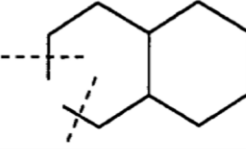
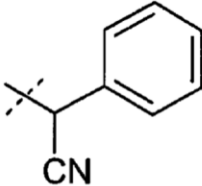
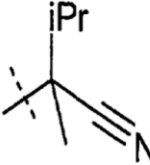
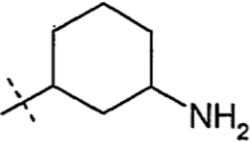
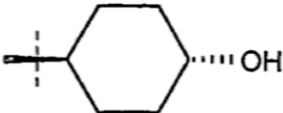
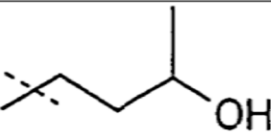
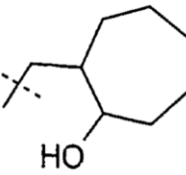
438.	6-F	-		H	471.2	**
439.	6-F	-		H	463.3	***
440.	6-F	-		H	407.2	***
441.	6-F	-		H	409.3	***
442.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	423.2	***
443.	6-F	-		H	409.2	***
444.	6-F	-		H	421.1	***
445.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	381.2	***
446.	8-Cl	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	425.2	***
447.	8-Cl	-		H	493.2	***
448.	8-Cl	-		H	479.3	***

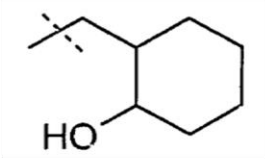
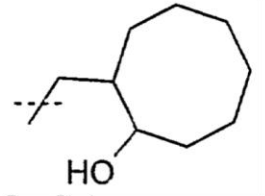
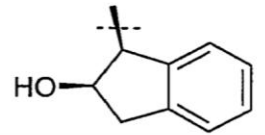
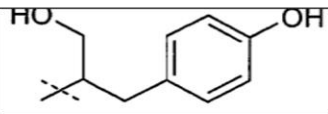
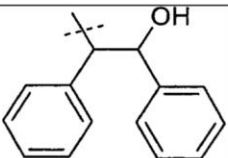
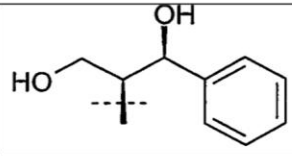
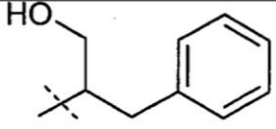
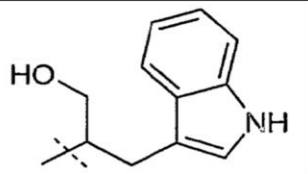
449.	8-Cl	-		H	465.2	***
450.	6-F	-	Et	H	352.2	***
451.	6-F	-		H	463.3	***
452.	6-F	-	Et	n Pr	394.2	**
453.	6-F	-		H	435.2	***
454.	6-F	-		H	477.3	***
455.	6-F	-	CH ₂ tBu	H	394.2	***
456.	6-F	-		H	503.3	***
457.	6-F	-		H	539.3	***
458.	6-F	-		H	471.2	***
459.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₂ CH=CH ₂) ₂	H	475.3	***
460.	6-F	-		H	493.3	***

461.	6-F	-			422.2	***
462.	6-F	-		H	477.3	***
463.	6-F	-			406.2	***
464.	6-F	-		H	477.3	***
465.	6-F	-			406.2	***
466.	6-F	-		H	519.2	***
467.	6-F	-	CH ₂ CF ₂ CF ₂ H	H	438.1	***
468.	6-F	-		H	491.3	***
469.	6-F	-		H	503.3	***
470.	6-F	-		H	531.3	***
471.	6-F	-		H	481.2	***

472.	6-F	-		H	449.3	***
473.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ F	H	388.1	***
474.	6-F	-	alil	alil	404.2	**
475.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CF=CF ₂	H	432.1	**
476.	6-F	-		H	507.3	***
477.	6-F	-		H	491.3	***
478.	6-F	-		H	465.3	***
479.	6-F	-		H	451.2	***
480.	6-F	-		H	465.2	***
481.	6-F	-		H	465.2	***
482.	6-F	-		H	363.1	***
483.	6-F	-		H	461.3	***

484.	6-F	-		H	515.3	***
485.	6-F	-		H	416.2	***
486.	6-F	-		H	377.1	***
487.	6-F	-	$\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3 \text{H}$	H	428.2	***
488.	6-F	-		H	393.1	***
489.	6-F	-			421.2	***
490.	6-F	-			407.1	***
491.	6-F	-	CH_2CONH_2	H	381.2	***
492.	6-F	-		H	454.1	***
493.	6-F	-		H	398.1	***
494.	6-F	-			420.2	**

495.	6-F	-			446.2	
496.	6-F	-			446.2	
497.	6-F	-		H	439.1	**
498.	6-F	-		H	419.2	***
499	6-F	-		H	421.2	***
500.	6,9-diF	-	CH ₂ CHF ₂	H	406.2	***
501.	6-F	-		H	422.2	***
502.	6-F	-		H	396.2	***
503.	6-F	-		H	450.2	**

504.	6-F	-		H	436.2	**
505.	6-F	-	<chem>CH2CH2NHCH2CH2OH</chem>	H	411.2	***
506.	6-F	-		H	464.2	**
507.	6-F	-	<chem>CH(CH2OH)2</chem>	H	398.1	***
508.	6-F	-	<chem>CH(CH3)CH2OH</chem>	H	382.1	***
509.	6-F	-	<chem>CH(CH2CH3)CH2OH</chem>	H	396.2	***
510.	6-F	-		H	456.2	**
511.	6-F	-		H	474.1	**
512.	6-F	-		H	520.2	*
513.	6-F	-		H	474.1	**
514.	6-F	-		H	458.2	***
515.	6-F	-		H	497.2	**
516.	6-F	-	<chem>C(CH3)2CH2OH</chem>	H	396.2	*

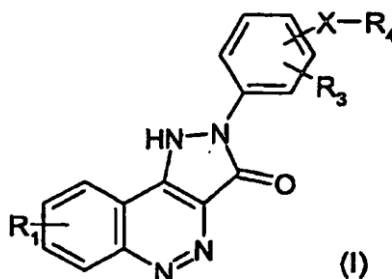
517.	6-F	-	C CH ₃ (CH ₂ OH) ₂	H	412.1	***
------	-----	---	---	---	-------	-----

Ejemplos de los resultados de prueba de los compuestos anteriores en el ensayo de inhibición de producción de interlequina-2 (IL-2) mediante las células T Jurkat humana, descrita anteriormente, son de la siguiente manera:

Ejemplo tabla)	No (ver	Concentración del Compuesto (μM)	Porcentaje de Inhibición (relativo a DMSO= 0%)
478		10	56.0
376		10	56.7
353		10	77.4
429		10	58.8
349		10	79.5
68		10	71.7
235		10	59.3
288		30	72
162		30	54.4
350		10	74.2
381		10	48.5
442		10	58.9
482		10	39.2
472		10	58.4
453		10	55.7
53		30	63.8

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal, hidrato o solvato aceptable para uso farmacéutico o en veterinaria de este:



en donde

- 5 R_1 y R_3 independientemente representan un H; F; Cl; Br; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ opcionalmente sustituido por F o Cl; o alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$ opcionalmente sustituido por F;

R_4 representa un grupo de ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) o un éster de este, o $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$, $-\text{NR}_7\text{C}(=\text{O})\text{R}_6$, $-\text{NR}_7\text{C}(=\text{O})\text{OR}_6$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_6$ o $-\text{NHC}(=\text{S})\text{NR}_7\text{R}_6$ en donde

R_6 representa un H, o un radical de fórmula $-(\text{Alk})_m\text{-Q}$ en donde

- 10 m es 0 o 1

Alk es un radical alquileo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ lineal o ramificado divalente opcionalmente sustituido, o alquilenilo $\text{C}_2\text{-C}_{12}$, o alquinileno $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ o un radical carbocíclico $\text{C}_3\text{-C}_{12}$ divalente; cualquiera de los radicales que pueden contener uno o más enlaces $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ o $-\text{N}(\text{R}_8)-$ en donde R_8 representa un H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, alqueniilo $\text{C}_3\text{-C}_4$, alquinilo $\text{C}_3\text{-C}_4$, o cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$, y

- 15 Q representa un H; $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$ en donde R_9 y R_{10} independientemente representan un H; alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$; alqueniilo $\text{C}_3\text{-C}_4$; alquinilo $\text{C}_3\text{-C}_4$; cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido; o R_9 y R_{10} forman un anillo cuando se toma junto con el nitrógeno al cual se unen, anillo que es opcionalmente sustituido; y

R_7 representa un H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; o cuando se toma junto con el átomo o átomos al cual se unen

- 20 R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico monocíclico opcionalmente sustituido que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo; y

X representa un enlace o un radical divalente de fórmula $-(\text{Z})_n\text{-(Alk)-}$ o $-(\text{Alk})\text{-(Z)}_n\text{-}$ en donde Z representa $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ o $-\text{NH}-$, Alk es como se define en relación con R_6 y n es 0 o 1,

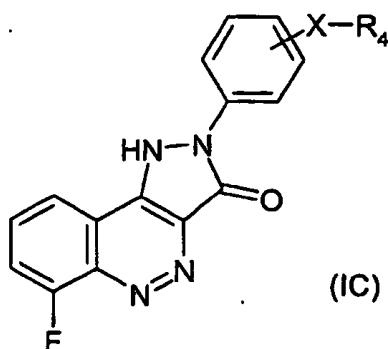
en donde a menos que se especifique de otra manera, en el contexto en el cual esto ocurre, el término "sustituido" como se aplica a cualquier fracción en este documento significa sustituido con al menos un sustituyente, seleccionado a partir de alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), alqueniilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), alquinilo ($\text{C}_2\text{-C}_6$), alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido, alqueniilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido, alquinilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido, alcoxi ($\text{C}_1\text{-C}_6$) y alcoxi ($\text{C}_1\text{-C}_6$) fluor-sustituido (incluyendo el caso especial donde un anillo es sustituido en los átomos de C del anillo adyacente por un alquilenodioxo o etilenodioxo), alquiltio($\text{C}_1\text{-C}_6$), fenilo, benzilo, fenoxi, benziloxi, hidroxilo, mercapto, amino, fluor, cloro, bromo, ciano, nitro, oxo, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_2\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{COR}^A$, $-\text{COOR}^A$, $-\text{SO}_2\text{OR}^A$, $-\text{NHCOR}^A$, $-\text{NHSO}_2\text{R}^A$, $-\text{CONHR}^A$, $-\text{SO}_2\text{NHR}^A$, $-\text{NHR}^A$, $-\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{CONR}^A\text{R}^B$ o $-\text{SO}_2\text{NR}^A\text{R}^B$ en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) o alcoxi ($\text{C}_2\text{-C}_6$) o un grupo carbocíclico o heterocíclico monocíclico de 5-7 miembros del anillo, o R^A y R^B forman un anillo, cuando se toman junto con el nitrógeno al cual se unen;

o

- 35 en donde "sustituido" significa sustituido por un fenilo, benzilo, fenoxi, o benziloxi, el anillo fenilo de este puede por sí mismo ser sustituido con cualquiera de los anteriores, con excepción del fenilo, benzilo, fenoxi, o benziloxi.

2. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el radical R_4X - está en la posición 4 del anillo fenilo.
3. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde X es un enlace.
- 5 4. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R_3 es un hidrógeno.
5. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R_1 es un hidrógeno o fluor.
6. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R_4 representa un $-C(=O)NR_6R_7$ en donde R_6 y R_7 son como se definen en la reivindicación 1.
- 10 7. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R_4 representa un $-NHC(=O)NR_7R_6$ en donde R_6 y R_7 son como se definen en la reivindicación 1.
8. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 7, en donde R_6 es un radical quinuclidinilo.
9. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R_6 representa un radical de fórmula $-(Alk)_m-Q$ en donde m es 1 y el radical divalente Alk contiene 3 o 4 átomos de carbono y es no sustituido, y Q representa un $-NR_9R_{10}$ en donde R_9 y R_{10} independientemente representan un H; alquilo C_1-C_4 ; alquenilo C_3-C_4 ; alquinilo C_3-C_4 ; cicloalquilo C_3-C_6 ; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido; o forma un anillo cuando se toma junto con el nitrógeno al cual se unen, anillo que es opcionalmente sustituido.
- 15 10. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde R^7 es un hidrógeno.
- 20 11. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde Q representa un H; $-CF_3$; $-OH$; $-SH$; $-NR_8R_8$ en donde cada R_8 independientemente representa un H; alquilo C_1-C_4 ; alquenilo C_3-C_4 ; alquinilo C_3-C_4 ; cicloalquilo C_3-C_6 ; un grupo éster; un grupo arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo o heterocíclico opcionalmente sustituido; o formar un anillo cuando se toma junto con el nitrógeno al cual se unen; y
- 25 R_7 representa un H o alquilo C_1-C_6 ; o cuando se toma junto con el átomo o átomos al cual se unen R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico monocíclico que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo.
12. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 11, en donde R_4 representa un grupo de ácido carboxílico ($-COOH$) o un grupo éster de fórmula $-COOR$ en donde R es metilo, etilo, n- o iso-propilo, n-, sec- o ter-butilo o benzilo.
- 30 13. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en donde R_6 representa un radical de fórmula $-(Alk)_m-Q$ en donde m es 1, Alk es $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, o $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$, o un radical ciclopropileno, ciclopentileno o ciclohexileno divalente, opcionalmente sustituido por OH, oxo, CF_3 , metoxi o etoxi, y Q representa un hidrógeno; $-NR_8R_8$ en donde cada R_8 puede ser igual o diferente y seleccionado a partir de hidrógeno, metilo, etilo, n- o isopropilo o ter-butilo; un metilo, etilo o benzilo éster; o un grupo fenilo, fenoxi, ciclopentilo, ciclohexilo, furil, tienil, piperidil, o piperazinil opcionalmente sustituido.
- 35 14. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13 en donde R_7 representa un metilo, etilo, n- o iso-propilo, n-, sec- o ter-butilo; o cuando se toma junto con el átomo o átomos al cual se unen R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico monocíclico que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo.
15. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14 en donde R_1 es H, F, Cl, metilo, metoxi, o metilenodioxi.
- 40 16. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14 en donde R_1 es F, en la posición 6 del sistema de anillo 3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il.
17. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 11 a 16, en donde R_3 es H, F, Cl, metilo, metoxi, o metilenodioxi.
- 45 18. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 11 a 17, en donde X es un enlace, o un radical $-CH_2-$ o $-CH_2CH_2-$.

19. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la estructura de fórmula (IC) o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico:

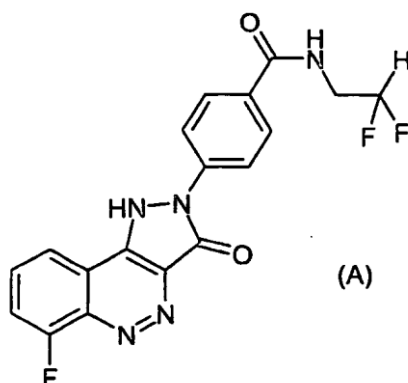


en donde X y R₄ son como se especifica en cualquiera de las reivindicaciones 3, 7 a 10 o 11 a 18.

5 **20.** Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 18, en donde el radical R₄X- está en la posición 4 del anillo fenilo.

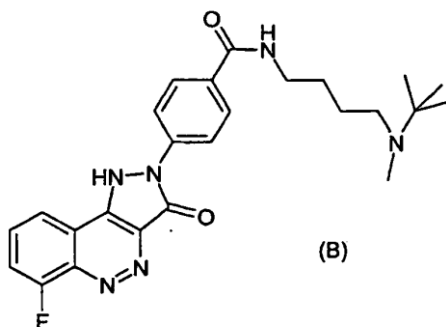
21. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 19 o la reivindicación 20, en donde X es un enlace y R₄ es -C(=O)NR₆R₇ en donde R₆ y R₇ son como se especifica en la reivindicación 11, o la reivindicación 13 o 14 respectivamente.

10 **22.** Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la estructura 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo [4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(2,2-difluoro-etil-il)-benzamida, de fórmula (A)



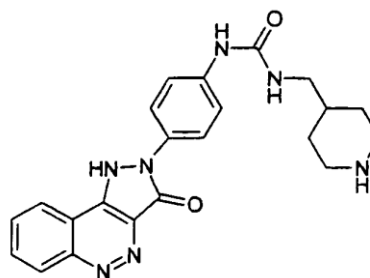
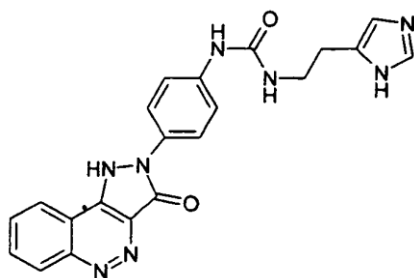
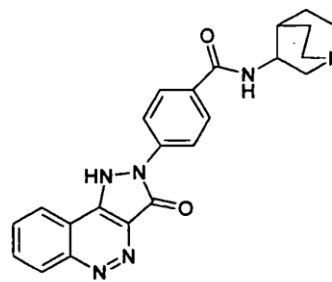
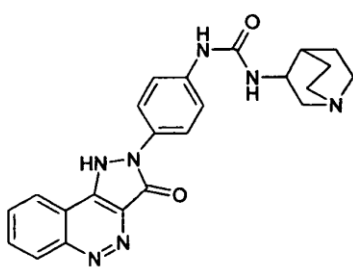
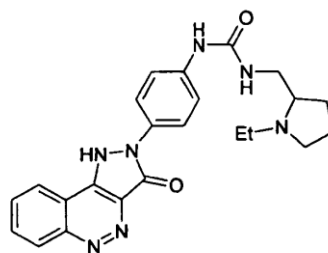
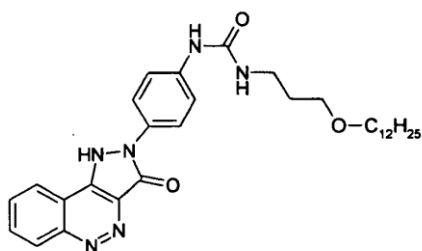
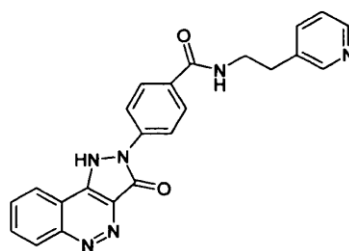
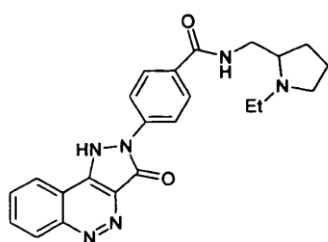
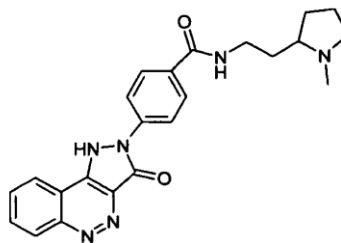
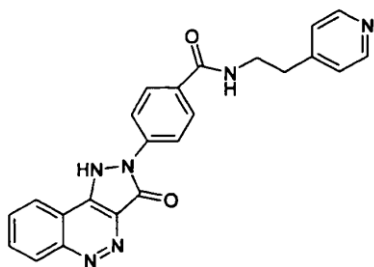
o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico.

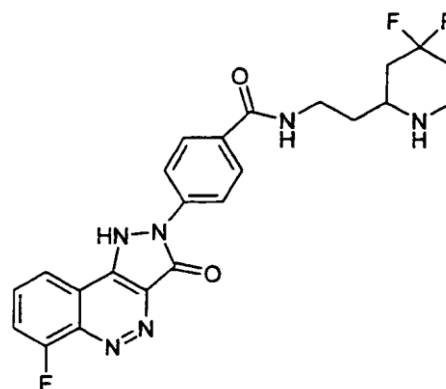
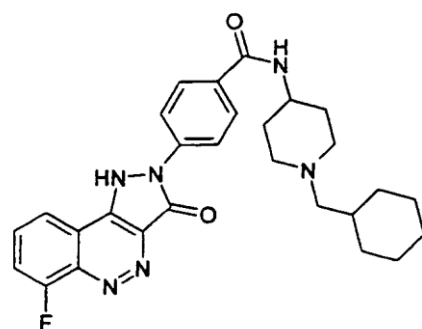
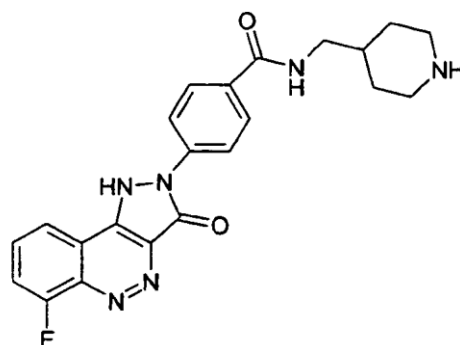
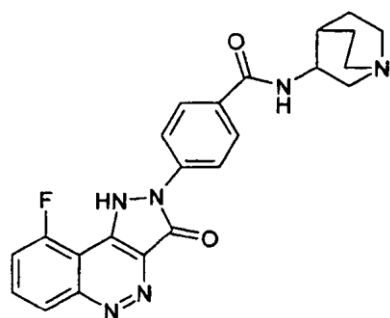
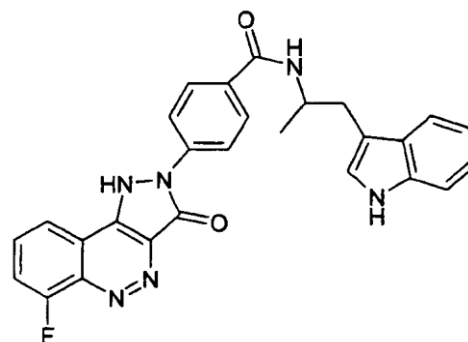
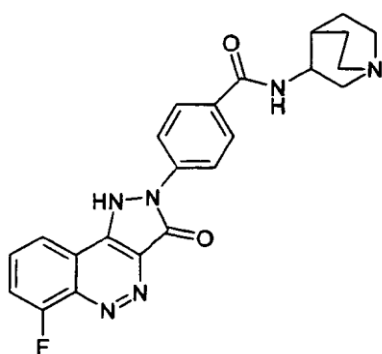
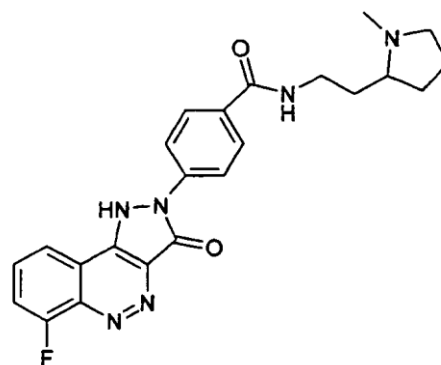
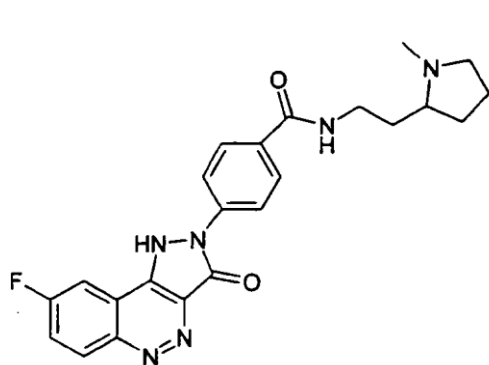
15 **23.** Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la estructura N-[3-(ter-butilo-metilo-amino)-butilo]-4-(6-fluor-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo[4,3-c]-cinnolin-2-il)-benzamida, de fórmula (B):

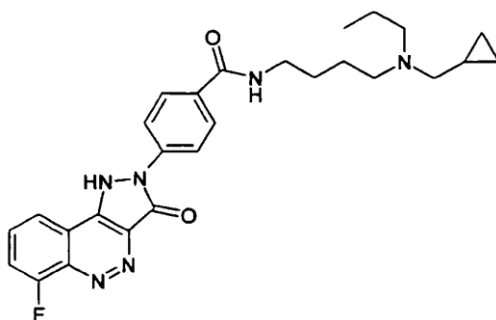


o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico.

24. Un compuesto de la estructura seleccionada a partir de uno de los grupos que consiste de las siguientes fórmulas:







o una de sus sales, hidratos o solvatos aceptables para el uso veterinario o farmacéutico.

25. Una composición veterinaria o farmacéutica que comprende un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 junto con un excipiente o portador aceptable para el uso farmacéutico o veterinario.

5 **26.** Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizar en el tratamiento de afecciones que se pueden tratar con la inmunomodulación.

27. El uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de afecciones que se pueden tratar con la inmunomodulación.

10 **28.** Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizar en un método de inmunomodulación en mamíferos, incluyendo humanos, que comprende la administración a un mamífero, con necesidad de dicho tratamiento, de una dosis efectiva inmunomoduladora del compuesto.

29. Un compuesto para su uso, como se reivindica en la reivindicación 26, el uso como se reivindica en la reivindicación 27 o un método como se reivindica en la reivindicación 28, en donde la inmunomodulación es la inmuno-inhibición.

15 **30.** Un compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 26, el uso como se reivindica en la reivindicación 27 o un método como se reivindica en la reivindicación 28, en donde la afección es una enfermedad autoinmune, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, diabetes, asma, trasplante, lupus eritematoso sistémico y psoriasis.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCION

Esta lista de referencias citada por el aspirante es solamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento de la patente Europea. Aún cuando se ha tenido gran cuidado en recopilar las referencias, los errores u omisiones no se pueden excluir y la EPO desconoce toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patentes citadas en la descripción

- 5 • WO 03004495 A [0004]
- US 4591589 A [0005]

Literatura no-patente citada en la descripción

- Lenschow et al. *Annu. Rev. Immunol.*, 1996, vol. 14, 233-258 [0003]
- Ninomiya, K. ; Shioiri, T. ; Yamada, S. *Tetrahedron*, 1974, vol. 30 (14), 2151-7 [0030]
- 10 • Collins AV et al. *Immunity*, 2002, vol. 17, 201-210 [0097]