

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 491**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/4162 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2007 E 07726618 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013 EP 1999131**

54 Título: **Biciclopirazoles activos como inhibidores de cinasa**

30 Prioridad:

03.03.2006 US 778898 P

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

11.02.2014

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)
VIALE PASTEUR, 10
20014 NERVIANO (MI), IT**

72 Inventor/es:

**BANDIERA, TIZIANO;
BERTRAND, JAY AARON;
PEVARELLO, PAOLO;
PERRONE, ETTORE;
LOMBARDI BORGIA, ANDREA;
ORRENIUS, STEN CHRISTIAN;
ANGIOLINI, MAURO y
FANCELLI, DANIELE**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 442 491 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

Biciclopirazoles activos como inhibidores de cinasa

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a ciertos compuestos de pirazol bicíclicos, a composiciones farmacéuticas de los mismos, y al uso de estos compuestos de pirazol bicíclicos o composiciones farmacéuticas de los mismos en el tratamiento de ciertas enfermedades.

Discusión de los antecedentes

15 El receptor del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1R, IGF1R) es un miembro de la subfamilia de receptores de insulina de RTKs. IGF-1R tiene un patrón de expresión tisular relativamente ubicuo, y consiste en dos cadenas alfa, las cuales son extracelulares y contienen la función de unión a ligando, y dos cadenas beta, las cuales abarcan la membrana celular y contienen los dominios cinasa intracelulares. El receptor maduro consta de un heterodímero de dos pares de subunidades alfa/beta unido con disulfuro, dando como resultado un complejo (alfa/beta)₂. IGF-1R es capaz de unir y activarse mediante los ligandos factor de crecimiento insulínico tipo 1 y 2 (IGF-1 y IGF-2). La insulina también activará IGF-1R pero sólo a concentraciones supra-fisiológicas (es decir, en el intervalo de aproximadamente 100 nanoM – 1 microM).

25 IGF-1 y IGF-2 son factores de crecimiento circulantes que median muchos de los efectos de la hormona del crecimiento (GH, del inglés Growth Hormone) y por consiguiente tiene papeles importantes en el crecimiento y metabolismo fetal y post-natal. IGF-1R, como muchos otros RTKs como las familias de receptores EGF y PDGF, tiene una potente actividad mitogénica, anti-apoptótica y transformadora en un intervalo amplio de tipos de células. En particular, activa directamente al menos dos rutas principales de señalización celular, la ruta ras/MAPK, mediante la captación de SHC, y la ruta PI-3 cinasa/AKT (PBK), mediante la captación y fosforilación de las proteínas adaptadoras IRS.

35 Existen varias líneas de evidencia que sugieren que la señalización de IGF-1R contribuye a la génesis tumoral y que interferir con la función de IGF-1R representa una opción terapéutica válida para el cáncer. La señalización de IGF-1R puede favorecer la génesis tumoral mediante múltiples mecanismos. Aparte de ser mitogénica para la mayoría, si no todas, las células que expresan IGF-1R, favorece la supervivencia celular e inhibe la apoptosis mediante la activación de PI-3K/AKT y ras/MAPK, así como otras rutas de señalización, dependiendo del contexto celular.

40 Varias estrategias experimentales han demostrado que la interferencia con la función de IGF-1R puede tener como resultado efectos anti-tumorales en un intervalo amplio de tipos de célula tumoral. También se han descrito inhibidores selectivos de la actividad de IGF-1R cinasa de bajo peso molecular y estos agentes inhiben el crecimiento in vitro e in vivo de un intervalo amplio de células tumorales humanas.

45 Como IGF-1R estimula la proliferación celular, la transformación y la protección de la apoptosis en un amplio intervalo de tipos de células y en respuesta a la cooperación con diversos estímulos, se deduce que la inhibición de la función de IGF-1R puede potenciar los efectos de los agentes quimioterapéuticos que tienen diversos mecanismos de acción. Se ha observado que un bloqueo de la función IGF-1R usando las estrategias descritas arriba, incluyendo los inhibidores cinasa selectivos de IGF-1R, aumentala actividad in vitro y/o in vivo de un amplio intervalo de agentes que incluyen inhibidores de transducción de señal como Gleevec, anticuerpos bloqueantes de anti-EGFR y anti-HER2, agentes citotóxicos como adriamicina, doxorubicina, 5-FU, vinorelbina y terapia antihormonal.

55 Aparte del cáncer, la actividad de IGF-1R también está implicada en un amplio intervalo de procesos patofisiológicos en los cuales la inhibición de la actividad del receptor se espera que rinda beneficios clínicos. Esto incluye, sin limitarse a ello, acromegalia, condiciones que implican inflamación persistente y/o proliferación celular, como la psoriasis y la enfermedad fibrótica pulmonar y la hiperplasia benigna de próstata. La reducción de la señalización de IGF-1R también se ha asociado con un incremento en la longevidad de varios modelos animales, potencialmente debido a un incremento de la tolerancia al estrés oxidativo, como el que sucede durante la hiperoxia, y los ajustes relacionados también se podrían dirigir terapéuticamente mediante inhibición del receptor.

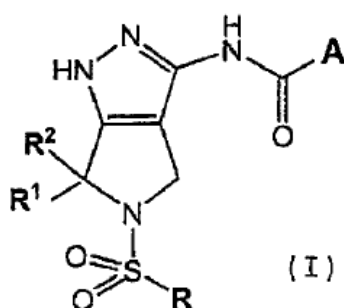
60 La señalización de IGF-1R proporciona estímulos angiogénicos en muchos tejidos, al menos en parte a través de estimulación de respuestas hipóxicas, incluyendo sobrerregulación de la expresión de VEGF. En consecuencia, el bloqueo sistémico de IGF-1R usando un anticuerpo monoclonal ha resultado un tratamiento eficaz en un modelo animal de retinopatía diabética, una enfermedad que implica una expresión VEGF inadecuada. De forma similar, la función de IGF-1R está fuertemente relacionada con la contribución al desarrollo de retinopatía de prematuridad, así como en la degeneración macular asociada a la edad. También hay evidencia de que IGF-1R contribuye a la formación de neointima vascular y a procesos ateroscleróticos.

Así, IGFs/IGF-1R juega un papel importante en los procesos de génesis tumoral en un intervalo amplio de tumores humanos, y se esperaría que la inhibición de la función IGF-1R mediante enfoques que incluyen inhibidores de la actividad cinasa de IGF-1R rindiera beneficios terapéuticos, bien sola o en combinación con varios agentes. Dicha terapia se podría extender a otras muchas patologías que implican una actividad de IGF-1R inadecuada. En consecuencia, existe la necesidad de nuevos compuestos que puedan inhibir la actividad cinasa de IGF-1R.

RESUMEN DE LA INVENCION

Se ha encontrado que los compuestos de fórmula (I) descritos abajo son inhibidores de la actividad tirosina cinasa de IGF-1R. La presencia de un grupo sulfonilo unido al nitrógeno del anillo dihidropirrol del sistema pirrolo[3,4-c]pirazol bicíclico es crucial para la actividad de los compuestos de la presente invención como inhibidores de tirosina cinasa IGF-1R.

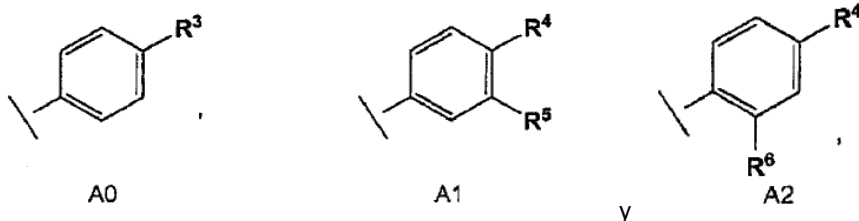
En consecuencia, un aspecto de la invención proporciona un compuesto representado por la fórmula (I):



en la que:

R se selecciona del grupo consistente en arilo y heteroarilo halosustituido;
 R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

A se selecciona del grupo consistente en:



R³ se selecciona del grupo consistente en OR⁷, NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, OR⁷, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

o R⁴ y R⁵, tomados junto a los átomos de carbono a los cuales están unidos, forman un heterocicloalquilo;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro y NHCOR¹¹;

R⁷ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄, arilo y heterocicloalquilo;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

R¹⁰ es alquilo C₁-C₄ o cicloalquilo C₃-C₅;

R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂NH₂, -CH₂NHCH₃, -CH₂N(CH₃)₂, -CH(NH₂)CH₃, y pirrolidin-2-ilo;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos,

5 en la que

el alquilo C₁-C₄ puede estar sustituido o no sustituido;

10 el cicloalquilo C₃-C₅ puede estar sustituido o no sustituido;

el "heterocicloalquilo" puede estar sustituido o no sustituido y

el "arilo" o "heteroarilo" puede estar sustituido o no sustituido.

15 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto según la fórmula (I) y un portador farmacéuticamente aceptable.

20 Otro aspecto de la invención revela un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso en un método de tratamiento de un trastorno o enfermedad en un mamífero, en el que dicho trastorno o enfermedad está causado por o asociado con la actividad proteína cinasa desregulada, en particular la actividad de IGF-1R o Aurora cinasas, y más en particular la actividad cinasa de IGF-1R que comprende la administración a dicho mamífero necesitado de dicho tratamiento del compuesto de fórmula (I).

25 Otro aspecto de la invención se refiere a un método in vitro de inhibición de la actividad tirosina cinasa de IGF-1R que comprende la administración a IGF-1R de una cantidad del compuesto de fórmula (I) que es eficaz en la inhibición de la actividad tirosina cinasa de IGF-1R.

30 Otro aspecto de la invención revela un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso en un método de tratamiento de un trastorno o enfermedad en un mamífero, en el que la inhibición de la actividad tirosina cinasa de IGF-1R es necesaria en dicho mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en la inhibición de la actividad tirosina cinasa de IGF-1R.

35 Otro aspecto de la invención revela un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso en un método de tratamiento de un trastorno o enfermedad en un mamífero, en el que la inhibición de la actividad tirosina cinasa de IGF-1R es necesaria en dicho mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero de una cantidad del compuesto de fórmula (I) que es eficaz en el tratamiento de dicho trastorno o enfermedad.

40 Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso en un método de tratamiento de un trastorno o enfermedad seleccionado del grupo consistente en cáncer, trastornos proliferativos celulares, infecciones víricas, retinopatías, degeneración macular asociada a la edad, aterosclerosis, enfermedades que implican proliferación del músculo liso vascular o formación de neointima, reestenosis después de angioplastia o cirugía, enfermedades de injertos vasculares, acromegalia, trastornos secundarios de la acromegalia, enfermedades hipertróficas en las que está involucrada la señalización de IGF/IGF-1R, hiperplasia benigna de próstata, psoriasis, fibrosis pulmonar, patologías relacionadas con el estrés oxidativo crónico o agudo o el daño tisular inducido por hiperoxia, trastornos metabólicos en los que están implicados niveles elevados de IGF o actividad de IGF-1R, y obesidad.

50 En otra realización, el cáncer en los métodos anteriores se selecciona del grupo consistente en carcinoma, carcinoma de células escamosas, tumores hematopoiéticos de linajes mieloides o linfoides, tumores de origen mesenquimal, tumores del sistema nervioso central y periférico, melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratoxantoma, cáncer folicular tiroideo y sarcoma de Kaposi.

55 En otra realización, el trastorno proliferativo en los métodos anteriores se selecciona del grupo consistente en poliposis adenomatosis familiar, neuro-fibromatosis, artritis y glomerulonefritis.

60 Otro aspecto de la invención revela un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso en un método para el tratamiento de enfermedades mediadas por la actividad proteína cinasa desregulada, la cual incluye receptor de tirosina cinasas (RTKs), no receptor de proteína tirosina cinasas (CTKs) y serina/treonina proteína cinasas (STKs), en un mamífero, cuyo método comprende la administración a dicho mamífero necesitado de dicho tratamiento de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) en combinación con uno o varios agentes quimioterapéuticos o radioterapia. Dichos agentes quimioterapéuticos pueden incluir, sin limitarse a ellos, agentes antihormonales como antiestrógenos, antiandrógenos e inhibidores de la aromatasa, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II,

65

agentes cuya diana son microtúbulos, agentes basados en platino, agentes alquilantes, agentes intercalantes o nocivos para el ADN, antimetabolitos antineoplásicos, otros inhibidores de cinasa, otros agentes anti—angiogénicos, inhibidores de cinesinas, anticuerpos monoclonales terapéuticos, inhibidores de mTOR, inhibidores de histona desacetilasa, inhibidores de farnesil transferasa e inhibidores de la respuesta hipóxica.

5 También se describen derivados de los compuestos de fórmula (I). Los derivados pirrolo[3,4-c]pirazol de fórmula (I) se pueden preparar mediante un proceso sintético consistente en transformaciones sintéticas estándar, las cuales están comprendidas dentro del alcance de la invención y se describen por ejemplo en *Smith, Michael – March's Advanced Organic Chemistry: reactions mechanisms and structure – 5ª Edición, Michael B. Smith y Jerry March,*
10 *John Wiley & Sons Inc. Nueva York (NY), 2001.*

El experto en la materia sabe que la transformación de una función química en otra puede requerir que uno o varios centros reactivos en el compuesto que contiene esta función se protejan para evitar reacciones secundarias indeseadas. La protección de dichos centros reactivos y la posterior desprotección al final de las transformaciones
15 sintéticas se puede llevar a cabo siguiendo procedimientos estándar descritos en: *Green, Theodora W. y Wuts, Peter G. M. – Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition, John Wiley & Sons Inc., Nueva York (NY), 1999.*

En la solicitud internacional PCT WO 2002012242 se han descrito análogos de los compuestos de fórmula (I).

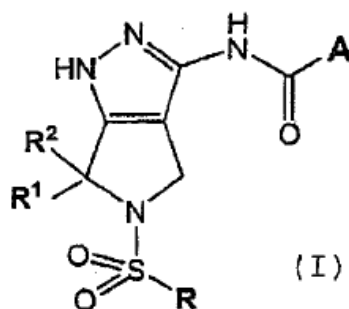
20 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIGURA 1: La Figura 1 representa la SEC. ID. N°:3, la cual es una proteína de fusión que consiste esencialmente en una fracción péptido GST/espaciador N-terminal (aminoácidos 1-231 de SEC. ID. N°:3) y una fracción C-terminal que
25 representa el dominio intracelular de IGF-1R humano (aminoácidos 232-639 de SEC. ID. N°:3).

FIGURA 2: La Figura 2 muestra la inhibición de la auto-fosforilación de IGF1R en células MCF-7 privadas de alimento estimuladas con IGF1 10 nM mediante compuestos de fórmula (I), ejemplificado por los compuestos de los
30 ejemplos 43 y 49. El tratamiento de las células MCF-7 privadas de alimento con IGF1 10 nM indujo la auto-fosforilación del receptor, como muestra la aparición de una banda más intensa de IGF1R fosforilada (pIGF1R). La incubación de las células con concentraciones crecientes de los compuestos descritos en los ejemplo 43 y 49 antes del tratamiento con IGF1 tuvo como resultado la inhibición de la auto-fosforilación de IGF1R inducida por IGF1, como muestra la reducción de la intensidad o la desaparición de la banda de IGF1R fosforilada (pIGF1R).

35 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención se refiere a un compuesto representado por la fórmula (I):

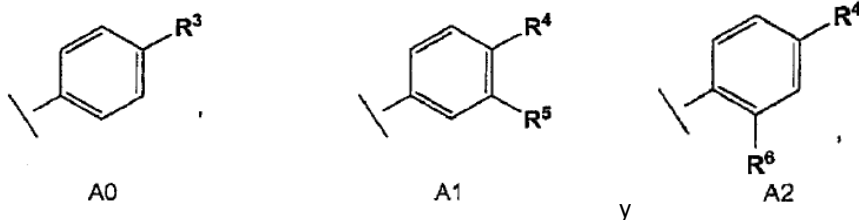


40 en la que

R se selecciona del grupo consistente en arilo y heteroarilo halosustituido;

45 R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

A se selecciona del grupo consistente en:



R³ se selecciona del grupo consistente en OR⁷, NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

5 R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, OR⁷, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

10 o R⁴ y R⁵, tomados junto a los átomos de carbono a los cuales están unidos, forman un heterocicloalquilo;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro y NHCOR¹¹;

R⁷ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄, arilo y heterocicloalquilo;

15 R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

R¹⁰ es alquilo C₁-C₄ o cicloalquilo C₃-C₅;

20 R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂NH₂, -CH₂NHCH₃, -CH₂N(CH₃)₂, -CH(NH₂)CH₃, y pirrolidin-2-ilo;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos,

25 en la que

el alquilo C₁-C₄ puede estar sustituido o no sustituido;

30 el cicloalquilo C₃-C₅ puede estar sustituido o no sustituido;

el "heterocicloalquilo" puede estar sustituido o no sustituido y

el "arilo" o "heteroarilo" puede estar sustituido o no sustituido.

35 Los compuestos bicíclicos fundidos que comprenden fracciones pirazol y poseen actividad inhibidora cinasa se dieron a conocer en los documentos WO 00/69846, WO 02/12242, WO 03/028720 y WO 04/056827, todos a nombre del propio solicitante.

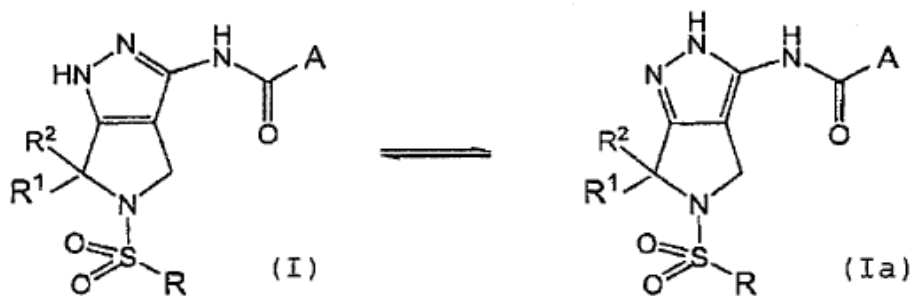
Además de los anteriores, se revelan derivados similares en el documento WO 2005/030776 a nombre de Vertex.

40 Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención están comprendidos en la fórmula general del anteriormente mencionado documento WO 02/12242, pero no están específicamente en la misma.

Los compuestos de fórmula (I) pueden tener uno o varios centros asimétricos y por consiguiente pueden existir como isómeros ópticos individuales o mezclas racémicas. En consecuencia, todos los posibles isómeros ópticos y sus mezclas de los compuestos de fórmula (I) están dentro del alcance de la presente invención. También se describen derivados de los compuestos de fórmula (I) que se originan a partir del metabolismo en un mamífero y los bio-precusores farmacéuticamente aceptables (de otro modo denominados pro-fármacos) del compuesto de fórmula (I).

45 Además de lo anterior, como saben los expertos en la materia, el anillo pirazol no sustituido de los compuestos de fórmula (I) se equilibra rápidamente en solución formando mezclas de tautómeros, como se describe a continuación:

50



En consecuencia, en la presente invención, donde sólo se indica un tautómero para los compuestos de fórmula (I), el otro tautómero (Ia) también está dentro del alcance de la presente invención, si no se indica lo contrario.

5 Los términos generales tal y como se usan aquí, a menos que se especifique lo contrario, tienen el significado indicado a continuación.

10 Excepto donde se indique de otro modo, las definiciones siguientes se aplican a lo largo de la especificación presente y las reivindicaciones. Estas definiciones se aplican independientemente de si un término se usa por sí mismo o en combinación con otros términos. Así, la definición de "alquilo" se aplica tanto a "alquilo" como a las porciones "alquilo" de "alquilamino", "dialquilamino", etc.

15 El término alquilo C₁-C₄ se refiere a un radical hidrocarburo alifático saturado, que incluye grupos de cadena lineal y cadena ramificada de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, n-butilo, iso-butilo y terc-butilo. El grupo alquilo puede estar sustituido o no sustituido. Si está sustituido, los grupos sustituyentes son preferentemente uno a tres, más preferentemente uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo consistente en arilo, halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi, alquiltio, ciano, formilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, amino, monoalquilamino, dialquilamino, arilalquilamino, carboxi, carboxamido, monoalquilcarboxamido y dialquilcarboxamido.

20 El término cicloalquilo C₃-C₅ se refiere a un anillo monocíclico todo de carbono de 3 a 5 miembros, el cual puede contener un doble enlace. Los ejemplos de grupos cicloalquilo son ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclopenteno. Un grupo cicloalquilo puede estar sustituido o no sustituido. Si está sustituido, los grupos sustituyentes son preferentemente uno o dos, seleccionados independientemente del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alquiltio, ciano, formilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, amino, monoalquilamino, dialquilamino, arilalquilamino, carboxi, carboxamido, monoalquilcarboxamido y dialquilcarboxamido.

30 El término "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado, de 5 a 6 miembros, donde uno o varios átomos de carbono están sustituidos por heteroátomos como nitrógeno, oxígeno y sulfuro. Son ejemplos no limitantes de heterocicloalquilo, por ejemplo, tetrahidrofurano, dihidrofurano, tetrahidrotiofeno, dihidrotiofeno, pirrolidina, dihidropirrol, pirano, dihidropirano, tetrahidropirano, tetrahidrotiopirano, piperidina, pirazolina, isoxazolidina, isoxazolina, tiazolidina, tiazolina, isotiazolina, dioxano, piperazina, morfolina, tiomorfolina y similares. Un grupo heterocicloalquilo puede estar sustituido o no sustituido. Si está sustituido, los grupos sustituyentes son preferentemente uno o dos sustituyentes, seleccionados independientemente del grupo consistente en alquilo C₁-C₄, halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alquiltio, ciano, formilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, amino, monoalquilamino, dialquilamino, arilalquilamino, carboxi, carboxamido, monoalquilcarboxamido y dialquilcarboxamido.

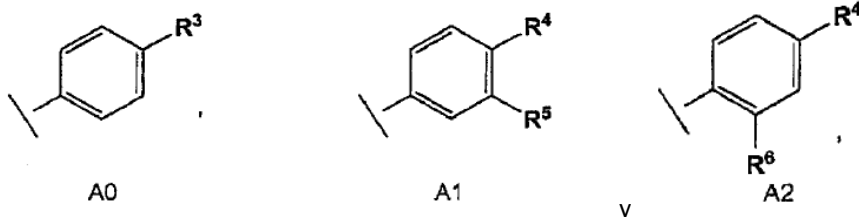
40 El término "heteroarilo" se refiere a sistemas de 1 a 4 anillos mono-, bi- o heterocíclicos, fundidos o unidos entre sí por enlaces sencillos, en los que al menos uno de los anillos heterocíclicos es aromático. Los ejemplos no limitantes de los grupos heteroarilo incluyen pirrolilo, furoilo, tiofenilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, indolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, benzimidazolilo, benzopirazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo y similares.

50 El término "arilo" se refiere a sistemas de 1 a 4 anillos mono-, bi- o policarboxílicos, fundidos o unidos entre sí por enlaces sencillos, en los que al menos uno de los anillos carbocíclicos es aromático. Los ejemplos no limitantes de los grupos arilo incluyen fenilo, indanilo, bifenilo, □- o □-naftilo, fluorenilo, 9,10-dihidroantraceno y similares.

55 Los términos "arilo" y "heteroarilo" se pueden referir también a anillos carbocíclicos o heterocíclicos aromáticos, respectivamente, también fundidos o unidos a anillos heterocíclicos no aromáticos, típicamente heterociclos de 5 a 7 miembros. Los ejemplos no limitantes de dichos grupos arilo y heteroarilo son, por ejemplo, 2,3-dihidroindolilo, 2,3-dihidrobenzofuranilo, 2,3-dihidrobenzotiofenilo; benzopiranilo, 2,3-dihidrobenzoxazinilo, 2,3-dihidroquinoxalinilo y

similares. Los grupos arilo o heteroarilo pueden ser no sustituidos o estar sustituidos por uno a tres, preferentemente uno o dos sustituyentes seleccionados de alquilo C₁-C₄, halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alquiltio, ciano, formilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, amino, monoalquilamino, dialquilamino, arilalquilamino, carboxi, carboxamido, monoalquilcarboxamido, dialquilcarboxamido.

- 5 El término "halógeno" indica flúor, cloro, bromo o yodo.
- El término "trifluorometilo" indica un grupo -CF₃.
- 10 El término "hidroxilo" indica un grupo -OH.
- El término "hidroxialquilo" indica un grupo hidroxilo unido a un grupo alquilo. Ejemplos de grupos hidroxialquilo son hidroximetilo (-CH₂OH), 2-hidroxietilo (-CH₂CH₂OH) y similares.
- 15 El término "alcoxi" indica un residuo donde un grupo alquilo sustituye el hidrógeno del hidroxilo (-O-alquilo). Ejemplos de grupos alcoxi son metoxi (-OCH₃), etoxi (-OCH₂CH₃), isopropiloxi [-OCH(CH₃)₂] y similares.
- El término "alquiltio" indica un grupo alquilo unido a un átomo de azufre (-S-alquilo). Ejemplos de grupos alquiltio son metiltio (-SCH₃), etiltio (-SCH₂CH₃), isopropiltio [-SCH(CH₃)₂] y similares.
- 20 El término "ciano" indica un residuo -CN.
- El término "formilo" indica un residuo -CHO.
- 25 El término "alquilcarbonilo" indica un residuo alquilo unido a un grupo CO [-C(=O)alquilo]. Ejemplos de alquilcarbonilo son metilcarbonilo [-C(=O)CH₃], etilcarbonilo [-C(=O)CH₂CH₃] y similares.
- El término "alquilsulfonilo" indica un grupo -SO₂alquilo. Ejemplos de grupos alquilsulfonilo son metilsulfonilo (-SO₂CH₃), etilsulfonilo (-SO₂CH₂CH₃) y similares.
- 30 El término "nitro" indica un grupo -NO₂.
- El término "amino" indica un grupo -NH₂.
- 35 Los términos "monoalquilamino" o "dialquilamino" indican un grupo amino donde uno o los dos hidrógenos están sustituidos por un grupo alquilo. Ejemplos de monoalquilamino son metilamino (-NHCH₃), etilamino (-NHCH₂CH₃) y similares. Ejemplos de dialquilamino son dimetilamino [-N(CH₃)₂], dietilamino [-N(CH₂CH₃)₂] y similares.
- El término "arilalquilamino" indica un grupo arilo unido a una función amino a través de un grupo alquilo. Ejemplos de arilalquilamino son bencilamino (-NHCH₂Fenilo), fenetilamino (-NHCH₂CH₂Fenilo) y similares.
- 40 El término "carboxi" indica un grupo -COOH.
- El término "carboxamido" indica un grupo -CONH₂.
- 45 Los términos "monoalquilcarboxamido" o "dialquilcarboxamido" indica un grupo carboxamido donde uno o los dos hidrógenos están sustituidos por un grupo alquilo. Ejemplos de monoalquilcarboxamido son metilcarboxamido (-CONHCH₃), etilcarboxamido (-CONHCH₂CH₃) y similares. Ejemplos de dialquilcarboxamido son dimetilcarboxamido [-CONH(CH₃)₂], dietilcarboxamido [-CON(CH₂CH₃)₂] y similares.
- 50 El término "sal farmacéuticamente aceptable" de los compuestos de fórmula (I) se refiere a aquellas sales que mantienen la eficacia biológica y las propiedades del compuesto precursor. Dichas sales incluyen: sal de adición ácida con ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico y perclórico y similares, o con ácidos orgánicos como ácido acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, (D) o (L) málico, maleico, metanolsulfónico, etanosulfónico, benzoico, p-toluenosulfónico, salicílico, cinámico, mandélico, tartárico, cítrico, succínico o malónico y similares; las sales formadas cuando un protón ácido presente en un compuesto de fórmula (I) se sustituye por un ion metálico, por ejemplo un ion de metal alcalino como sodio o potasio, o un ion alcalinotérreo como calcio o magnesio, o se coordina con una base orgánica como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y similares.
- 60 Los compuestos preferidos de fórmula (I) son los compuestos en que:
- R se selecciona del grupo consistente en arilo halosustituido;
- 65 A se selecciona del grupo consistente en:



R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

R³ se selecciona del grupo consistente en OR⁷, NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄; o R⁴ y R⁵, tomados junto a los átomos de carbono a los cuales están unidos, forman un heterocicloalquilo;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

R⁷ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y heterocicloalquilo;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

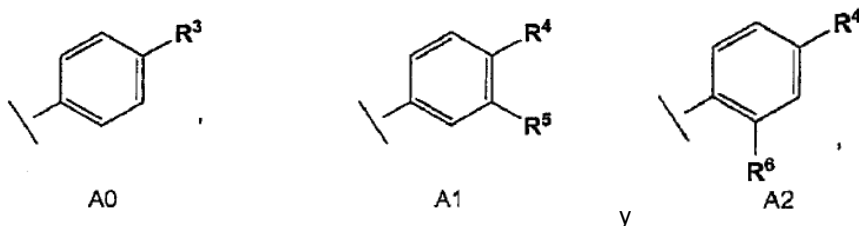
R¹⁰ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y cicloalquilo C₃-C₅; y

R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂NH₂, -CH₂NHCH₃, -CH₂N(CH₃)₂, -CH(NH₂)CH₃, y pirrolidin-2-ilo.

Otros compuestos preferidos de fórmula (I) son los compuestos en los que:

R se selecciona del grupo consistente en arilo halosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:



R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

R³ es heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄; o R⁴ y R⁵, tomados junto a los átomos de carbono a los cuales están unidos, forman un heterocicloalquilo;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

R¹⁰ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y cicloalquilo C₃-C₅; y

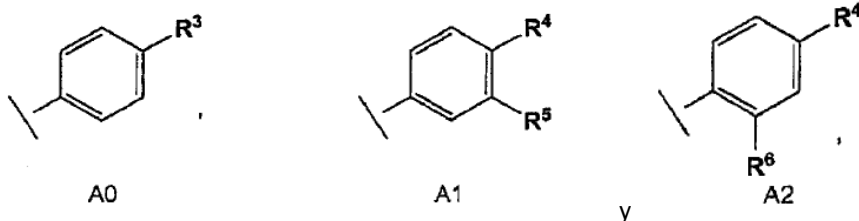
R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂N(CH₃)₂ y pirrolidin-2-ilo.

5

Otros compuestos preferidos de fórmula (I) son los compuestos en los que:

R es arilo halosustituido;

10 A se selecciona del grupo consistente en:



15

R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

R³ es heterocicloalquilo;

20

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

25

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

30

R¹⁰ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y cicloalquilo C₃-C₅; y

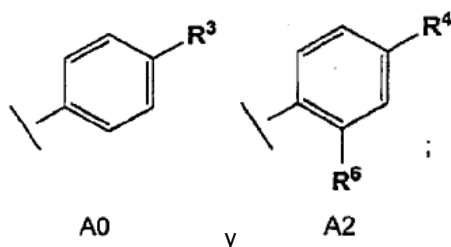
R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂N(CH₃)₂ y pirrolidin-2-ilo.

Los compuestos de fórmula (I) preferidos en particular son los compuestos en los que:

35

R es arilo halosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:



40

R¹ y R² son cada uno metilo;

R³ es heterocicloalquilo;

45

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄; y

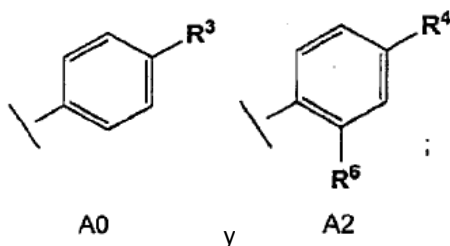
R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂.

Los compuestos de fórmula (I) más preferidos son los compuestos en los que:

5 R se selecciona del grupo consistente en un fenilo 2-halosustituido, un fenilo 3-halosustituido, un fenilo 2,6-dihalosustituido y un fenilo 3,5-dihalosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:

10



R¹ y R² son cada uno metilo;

15 R³ es un heterocicloalquilo de seis miembros;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y un heterocicloalquilo de seis miembros;

20 R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

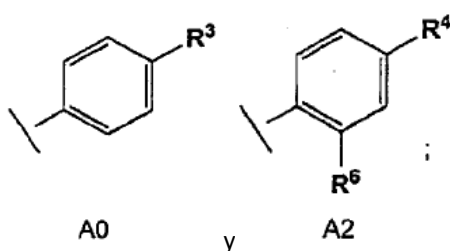
R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄; y

25 R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂.

Los compuestos de fórmula (I) más preferidos son los compuestos en los que:

30 R se selecciona del grupo consistente en un fenilo 3-halosustituido y un fenilo 3,5-dihalosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:



35 R¹ y R² son cada uno metilo;

R³ se selecciona del grupo consistente en morfolina y una piperazina sustituida;

40 R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹, morfolina y una piperazina sustituida

R⁶ se selecciona del grupo consistente en flúor y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹ son cada uno metilo; y

45 R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂.

Los ejemplos específicos, no limitantes, de compuestos de la invención, siempre que sean apropiados en forma de sales farmacéuticamente aceptables, son los siguientes:

N-[5-(cloro-tiofen-2-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirroló[3,4-c]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

50

- N-[5-(2-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 5 N-[5-(4-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(2-cloro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3-cloro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 10 N-[5-(4-cloro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(2,6-difluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 15 N-[5-(2,5-difluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3,4-difluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 20 N-[5-(2,6-dicloro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-piperazin-1-il-benzamida;
 25 4-(3,4-dimetil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-idroxi-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(2-idroxi-metil-4-metil-piperazin-1-il)-
 30 benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-idroxi-metil-4-metil-piperazin-1-il)-
 benzamida;
 35 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-metoxi-metil-4-metil-piperazin-1-il)-
 benzamida;
 4-(3-benciloxi-metil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-
 40 benzamida;
 4-(3-benciloxi-metil-4-metil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-
 benzamida;
 45 4-(4-ciclopropil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
 4-(4-terc-butil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
 50 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-idroxi-piperidin-1-il)-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-idroxi-metil-piperidin-1-il)-benzamida;
 4-[(2-dimetil-amino-etil)-metil-amino]-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-
 55 benzamida;
 4-(2-dimetil-amino-etil-amino)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-
 60 benzamida;
 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-
 benzamida;
 65 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzamida;

- 3-amino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 5 3-acetilamino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 3-(ciclopropancarbonil-amino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 10 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-(2-hidroxi-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-(2-metoxi-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 15 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-hidroximetil-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-[(2-hidroxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 20 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 1-metil-1,2,3,4-tetrahidro-quinoxalin-6-carboxílico;
- 25 [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 1-ciclopropanocarbonil-1,2,3,4-tetrahidro-quinoxalin-6-carboxílico;
- [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- 30 [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-etil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- 35 [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-isopropil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-(2-hidroxi-etil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- 40 N-[5-(2-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(2-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 45 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- 50 4-dimetilamino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- N-[5-(4-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 55 N-[5-(3,4-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-piperazin-1-il-benzamida;
- 60 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-etil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 65 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-benzamida;

- benzamida;
- 4-(4-terc-butil-piperazin-1-il)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 5 4-(4-ciclopropil-piperazin-1-il)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 10 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-benzamida;
- 15 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-nitro-benzamida;
- 20 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-3-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzamida;
- 25 2-acetilamino-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-2-isobutirilamino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 30 2-(ciclobutanocarbonil-amino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 35 2-(2-amino-acetilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-metilamino-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 40 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 45 2-((S)-2-amino-propionilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- [2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]carbamoil]-5-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amida del ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico;
- 50 [2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]carbamoil]-5-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amida del ácido (R)-pirrolidin-2-carboxílico;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-2-nitro-benzamida;
- 55 2-(2-amino-acetilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-metilamino-acetilamino)-4-morfolin-4-il-benzamida;
- 60 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-4-morfolin-4-il-benzamida;
- 65 {2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]carbamoil]-5-morfolin-4-il-fenil]-amida del ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico;

{2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-morfolin-4-il-fenil}-amida del ácido (R)-pirrolidin-2-carboxílico;

5 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-2-nitro-benzamida;

2-(2-amino-acetilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-benzamida;

10 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-2-(2-metilamino-acetilamino)-benzamida;

N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-benzamida;

15 {2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-dimetilamino-fenil}-amida del ácido pirrolidin-2-carboxílico;

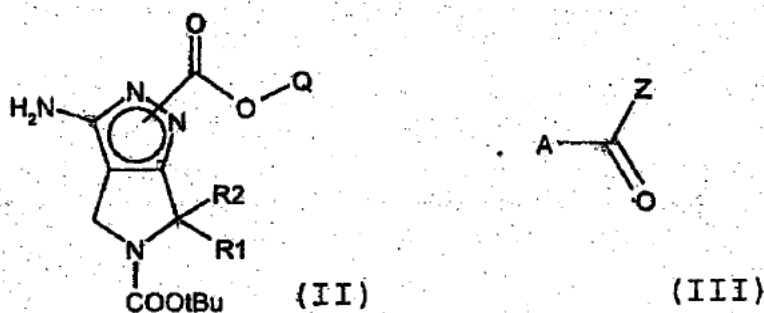
20 [5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico; y

[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-(2-hidroxi-etil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico.

25 Como se ha indicado anteriormente, otro objeto de la presente invención está representado por el proceso de preparación de los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, comprendiendo dicho proceso:

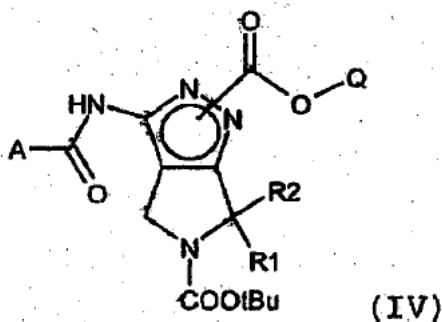
a) La reacción de un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (III),

30



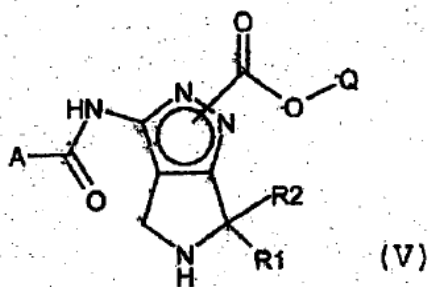
en el que A, R¹ y R² son como se define arriba, Q es un grupo alquilo inferior, por ejemplo un grupo alquilo C₁-C₄, más preferentemente metilo o etilo, tbu representa terc-butilo y Z es hidroxilo, halógeno o un grupo saliente apropiado, de modo que se obtenga un compuesto de fórmula (IV);

35



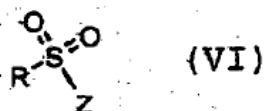
b) La reacción de un compuesto de fórmula (IV), en el que A, R¹, R² y Q son como se define arriba, bajo condiciones ácidas de manera que se obtenga un compuesto de fórmula (V);

40

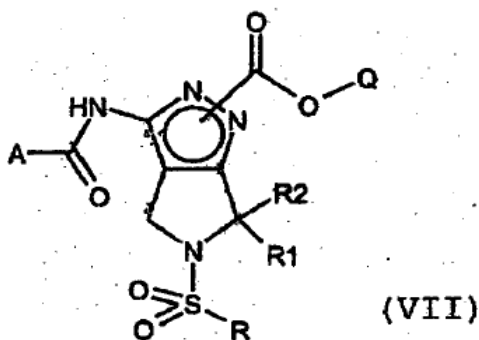


c) La reacción de un compuesto de fórmula (V), en el que A, R¹, R² y Q son como se define arriba, con un compuesto de fórmula (VI),

5



en el que R y Z son como se define arriba, de manera que se obtenga un compuesto de fórmula (VII);



10

d) La reacción de un compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R², A y Q son como se define arriba, bajo condiciones básicas de modo que se obtenga el correspondiente compuesto de fórmula (I) y, si se desea, la conversión en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

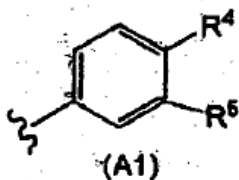
15

Alternativamente, un compuesto de fórmula (VII), como se define arriba, se puede transformar en otro compuesto de fórmula (VII). Dicha transformación comprende:

e) La conversión de un compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R² y Q son como se define arriba, A es A1 o A2 y R⁵ o R⁶ es NO₂, en otro compuesto de fórmula (VII), en el que R⁵ o R⁶ es NH₂ y A1, A2, R, R¹, R² y Q son como se define arriba;

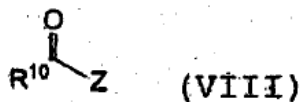
20

f) La reacción del compuesto de fórmula (VII) así obtenido, en el que A representa un residuo de fórmula (A1):



25

R, R¹, R², R⁴ y Q son como se define arriba y R⁵ es NH₂, con un compuesto de fórmula (VIII),

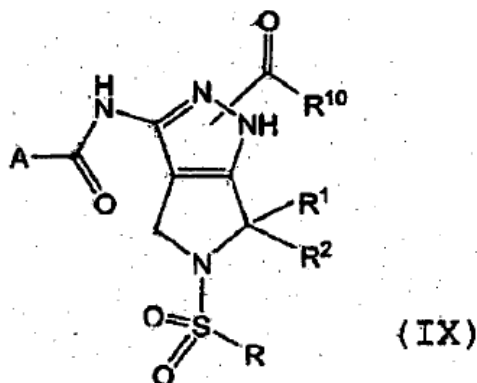


30

en el que R¹⁰ y Z son como se define arriba, de manera que se obtenga otro compuesto de fórmula (VII), en el que R⁵ es NHCOR¹⁰ y A, R, R¹⁰, R¹, R² y Q son como se define arriba. Dicho compuesto puede reaccionar como se

describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I), el cual se puede convertir, si se desea, en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Alternativamente, un compuesto de fórmula (VII), en el que A representa un residuo de fórmula (A1), R, R¹, R² y Q como se define arriba y R⁵ es NH₂, puede reaccionar primero como se describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I) que puede seguir reaccionando con un compuesto de fórmula (VIII) para obtener un compuesto de fórmula (IX),

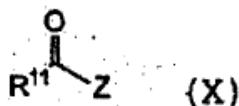
5



en el que A, R, R¹, R² y R¹⁰ son como se define arriba y R⁵ es NHCOR¹⁰. Un compuesto de fórmula (IX) puede reaccionar como se describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I), el cual se puede convertir, si se desea, en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

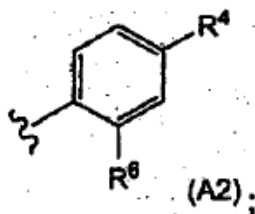
10

g) Un compuesto de fórmula (VII) puede reaccionar con un compuesto de fórmula (X):



15

en el que R¹¹ y Z son como se define arriba; A representa un residuo de fórmula (A2):



20 R, R¹, R², R⁴ y Q son como se define arriba, y R⁶ es NH₂,

de manera que se obtenga otro compuesto de fórmula (VII), en el que R⁶ sea NHCOR¹¹, y A, R¹¹, R¹, R² y Q son como se define arriba. Dicho compuesto puede reaccionar como se describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I), el cual se puede convertir, si se desea, en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

h) Un compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R² y Q son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1), R⁴ es como se define arriba y R⁵ es NH₂, puede reaccionar entonces con un aldehído o cetona adecuados, de manera que se obtenga otro compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R², Q son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1), R⁴ es como se define arriba y R⁵ es un grupo NR⁸R⁹, en el que uno de R⁸ o R⁹ es hidrógeno y el otro es un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado opcionalmente también sustituido. Dicho compuesto puede entonces reaccionar como se describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I), el cual se puede convertir, si se desea, en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

Alternativamente, un compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R² y Q son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1), R⁴ es como se define arriba y R⁵ es NH₂, reacciona primero como se describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I), en el que R, R¹ y R² son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1) y R⁵ es NH₂. Dicho compuesto reacciona entonces con un aldehído o cetona adecuados, como se describe arriba, para dar otro compuesto de fórmula (I), en el que R, R¹ y R² son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1), R⁴ es como se define arriba y R⁵ es un grupo NR⁸R⁹, en el que uno de R⁸ o R⁹ es hidrógeno y el otro es un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado opcionalmente también sustituido.

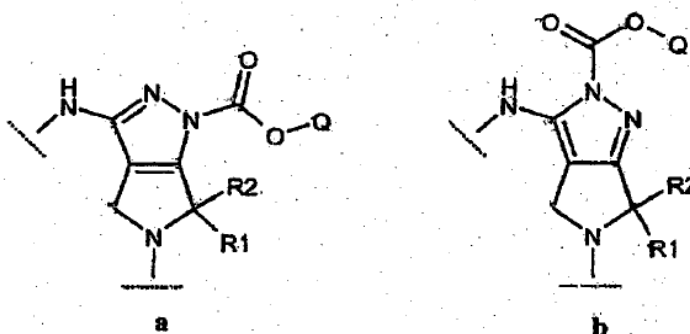
40

i) Un compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R² y Q son como se define arriba, A representa un residuo de

fórmula (A1), R^4 es como se define arriba y R^5 es un grupo NR^8R^9 , en el que uno de R^8 o R^9 es hidrógeno y el otro es un alquilo C_1-C_4 lineal o ramificado opcionalmente también sustituido, puede reaccionar entonces con un aldehído o cetona adecuados, para obtener otro compuesto de fórmula (VII) en el que R^5 es un grupo NR^8R^9 , en el que tanto R^8 como R^9 representan un alquilo C_1-C_4 lineal o ramificado opcionalmente también sustituido. Dicho compuesto

5 puede reaccionar entonces como se describe en d) para obtener un compuesto de fórmula (I) como se describe arriba. Alternativamente, el mismo procedimiento se puede aplicar partiendo de un compuesto de fórmula (I), en el que R , R^1 y R^2 son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1), R^4 es como se define arriba y R^5 es un grupo NR^8R^9 , en el que uno de R^8 o R^9 es hidrógeno y el otro es un alquilo C_1-C_4 lineal o ramificado opcionalmente también sustituido.

10 Se debe tener en cuenta que un compuesto de fórmula (II), (IV), (V) y (VII) como se define arriba puede encontrarse en cualquiera de sus formas isoméricas a o b:



15 La síntesis de un compuesto de fórmula (I), de acuerdo con el proceso sintético descrito arriba, se puede llevar a cabo por etapas, en las que cada intermedio se aísla y purifica mediante técnicas de purificación estándar, como por ejemplo, cromatografía en columna, antes de realizar la reacción siguiente. Alternativamente, se pueden llevar a cabo dos o más etapas de la secuencia sintética en un procedimiento denominado "one-pot", como se conoce en la

20 técnica, de modo que sólo se aísla y purifica el compuesto resultante de las dos o más etapas.

Los procedimientos siguientes proporcionan ejemplos ilimitados de preparaciones de los compuestos de la presente invención.

25 De acuerdo con la etapa (a) del procedimiento, la reacción entre un compuesto de fórmula (II) y un compuesto de fórmula (III) se puede llevar a cabo en una variedad de formas, de acuerdo con métodos convencionales para la acilación de derivados amino. Como ejemplo, un compuesto de fórmula (II) puede reaccionar con un cloruro de acilo de fórmula (III), en el que Z representa un átomo de cloro. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado, como por ejemplo, tetrahidrofurano, diclorometano, tolueno, éter dietílico, 1,4-dioxano,

30 acetronitrilo y en presencia de un secuestrante de protones como trietilamina, piridina, N,N-diisopropiletilamina, a una temperatura en el intervalo de temperatura ambiente a reflujo, durante un tiempo apropiado, típicamente de unos 30 minutos a unas 96 horas.

35 De acuerdo con la etapa (b) del proceso, el compuesto de fórmula (IV) se desprotege fácilmente en el átomo de nitrógeno del dihidropirrol, por tratamiento ácido. Esta reacción se puede llevar a cabo convenientemente en presencia de un ácido mineral u orgánico como, por ejemplo, ácido clorhídrico, trifluoroacético o metanosulfónico, en un disolvente apropiado como tetrahidrofurano, diclorometano, 1,4-dioxano, un alcohol inferior (p. ej. metanol o etanol), a una temperatura en el intervalo de temperatura ambiente a aproximadamente 40°C y durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 hora hasta unas 96 horas.

40 El compuesto de fórmula (V) así obtenido sigue reaccionando, de acuerdo con la etapa (c) del proceso, con un compuesto de fórmula (VI). A partir de lo anterior, resulta claro para un experto en la materia que esta reacción de sulfonilación se puede realizar en una variedad de formas y condiciones operativas, las cuales son ampliamente conocidas en la técnica para la preparación de sulfonamidas. Como ejemplo, la reacción entre un compuesto de

45 fórmula (V) y un cloruro de sulfonilo (VI), en el que Z es un átomo de cloro, se puede llevar a cabo en un disolvente apropiado como, por ejemplo, éter dietílico, tetrahidrofurano, diclorometano, cloroformo, tolueno, 1,4-dioxano, acetronitrilo y en presencia de un secuestrante de protones como trietilamina, piridina, N,N-diisopropiletilamina, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -10°C hasta reflujo, durante un tiempo apropiado, típicamente desde unos 30 minutos hasta unas 96 horas.

50 De acuerdo con las etapa (d) del proceso, un compuesto de fórmula (VII) se desprotege en el átomo de nitrógeno del pirazol trabajando según los métodos convencionales, permitiendo por ejemplo la hidrólisis selectiva del grupo carbamato. Como ejemplo, esta reacción se puede llevar a cabo bajo condiciones básicas, por ejemplo en presencia de hidróxido sódico, hidróxido potásico o hidróxido de litio, o una amina terciaria como trietilamina, y en un disolvente

apropiado como N,N-dimetilformamida, metanol, etanol, tetrahidrofurano, agua y mezclas de los mismos. Típicamente, la reacción se lleva a cabo a temperaturas en el intervalo entre temperatura ambiente hasta aproximadamente 60°C y durante un periodo de tiempo en el intervalo de unos 30 minutos hasta unas 96 horas.

5 De acuerdo con la etapa (e) del proceso, un compuesto de fórmula (VII), como se define arriba, se puede convertir en otro compuesto de fórmula (VII), en el que R⁵ o R⁶ es NH₂, en una variedad de formas, de acuerdo con métodos convencionales para la reducción de un grupo nitro a amino. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado, como por ejemplo metanol, etanol, agua, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, N,N-dimetilformamida, ácido acético, o mezclas de los mismos, en presencia de un agente reductor apropiado, como por ejemplo hidrógeno
10 y un catalizador de hidrogenación, o un metal como hierro o zinc en presencia de un ácido inorgánico, como ácido clorhídrico, o por tratamiento con cloruro de estaño (II), o por tratamiento con ciclohexeno, ciclohexadieno, ácido fórmico o formiato amónico y un catalizador de hidrogenación, a una temperatura en el intervalo de unos 0°C hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo de aproximadamente 1 hora hasta unas 96 horas. El catalizador de hidrogenación es normalmente un metal, más a menudo paladio, el cual se puede usar como tal o
15 sustentado en carbono.

Un compuesto de fórmula (VII), en el que R⁵ o R⁶ es NH₂, o un compuesto de fórmula (I), en el que R⁵ o R⁶ es NH₂, pueden seguir reaccionando, de acuerdo con la etapa (f) o (g) del proceso, con un compuesto de fórmula (VIII) o (X), respectivamente. A partir de lo anterior, resulta claro para un experto en la materia que esta reacción de acilación
20 también se puede llevar a cabo en una variedad de formas y condiciones operativas, las cuales son ampliamente conocidas en la técnica para la preparación de carboxamidas. Como ejemplo, la reacción entre un compuesto de fórmula (VII) o un compuesto de fórmula (I) y un derivado de ácido carboxílico de fórmula (VIII) o (X), en el que Z es un grupo saliente apropiado, se puede llevar a cabo en presencia de una base terciaria, como trietilamina, N,N-diisopropiletilamina o piridina, en un disolvente apropiado, como tolueno, diclorometano, cloroformo, éter dietílico, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo o N,N-dimetilformamida, a una temperatura en el intervalo de
25 aproximadamente -10°C hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo de aproximadamente 1 hora hasta unas 96 horas. El compuesto de fórmula (VII) o de fórmula (IX) así obtenido puede reaccionar como se describe en d) para dar un compuesto de fórmula (I).

30 De acuerdo con la etapa (h) del proceso, la reacción entre un compuesto de fórmula (VII), como se define arriba, y un aldehído o una cetona se puede llevar a cabo en una variedad de formas, de acuerdo con los métodos convencionales de alquilación reductiva. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado como, por ejemplo, metanol, etanol, N,N-dimetilformamida, diclorometano, tetrahidrofurano o una mezcla de los
35 mismos, en presencia de un agente reductor apropiado como, por ejemplo, borohidruro sódico, cianoborohidruro sódico, triacetoxiborohidruro sódico, hidrógeno y un catalizador de hidrogenación, y en presencia de un catalizador ácido, como por ejemplo, ácido acético, ácido trifluoroacético, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 0°C hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo de aproximadamente 1 hora hasta unas 96 horas. Este proceso se puede repetir en un compuesto de fórmula (VII), en el que R, R¹, R² y Q son como se define arriba, A representa un residuo de fórmula (A1), R⁴ es como se define arriba, y R⁵ es un grupo NR⁸R⁹, en el que uno de R⁸
40 o R⁹ es hidrógeno y el otro es un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, opcionalmente también sustituido, para obtener otro compuesto de fórmula (VII) en el que R⁵ es un grupo NR⁸R⁹, en el que ambos R⁸ y R⁹ representan un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, opcionalmente también sustituido.

En los casos en los que un compuesto de fórmula (I) contiene uno o varios centros asimétricos, dicho compuesto se
45 puede separar en los isómeros individuales mediante procedimientos conocidos por los expertos en la materia. Dichos procedimientos comprenden técnicas cromatográficas estándar, incluyendo cromatografía que usa una fase estacionaria quirál, o cristalización. Los métodos generales para la separación de compuestos que contienen uno o varios centros asimétricos se presentan, por ejemplo, en *Jacques, Jean; Collet, André; Wilen, Samuel H., - Enantiomers, Racemates, and Resolutions, John Wiley & Sons Inc., New York (NY), 1981.*
50

Un compuesto de fórmula (I) también se puede transformar en una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con procedimientos estándar conocidos por los expertos en la materia. Alternativamente, un compuesto de fórmula (I) que se ha obtenido como una sal se puede transformar en una base libre o el ácido libre de acuerdo con procedimientos estándar conocidos por el experto en la materia.
55

Los materiales de partida del proceso de la invención son conocidos o se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos.

60 Como ejemplo, la preparación de un compuesto de fórmula (II) en el que Q representa etilo y R¹ y R² son cada uno hidrógeno se revela en la solicitud internacional WO 02/12242 (véase, en particular, el ejemplo 26 en la página 249; este mismo compuesto se denomina aquí 5 terc-butil éster 1-etil éster del ácido 3-amino-4,6-dihidro-pirrol[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxílico). Además, la preparación de un compuesto de fórmula (II), en el que Q representa etilo y R¹ y R² son metilo, se revela en la solicitud internacional WO 04/056827 (véase, en particular, el ejemplo 6 en la
65 página 50; este mismo compuesto se denomina aquí 5 terc-butil-1-etil-3-amino-6,6-dimetil-pirrol[3,4-c]pirazol-2,5(4H, 6H)-dicarboxilato).

Se pueden preparar compuestos adicionales de fórmula (II), en los que Q representa un grupo alquilo inferior distinto de etilo, mediante la aplicación de procedimientos similares a aquellos revelados en las solicitudes de patente anteriormente mencionadas.

- 5 Los compuestos de fórmulas (III), (VIII) y (X), por ejemplo aquellos en los que Z representa un átomo de halógeno, p. ej. un átomo de cloro, bien son conocidos o se pueden obtener a partir de los correspondientes ácidos carboxílicos. Estos ácidos carboxílicos correspondientes, bien son conocidos o se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales.
- 10 Los compuestos de fórmula (VI), por ejemplo aquellos en los que Z representa un átomo de halógeno, p. ej. un átomo de cloro, bien son conocidos o se pueden preparar a partir de ácidos sulfónicos de acuerdo con métodos convencionales.

Ensayos

- 15 Los compuestos de la presente invención fueron analizados en ensayos tanto bioquímicos como basados en células, como se describe abajo.

Las formas cortas y abreviaturas usadas tienen el significado siguiente

20	Ci	Curie
	DMSO	dimetilsulfóxido
	ID	identidad
	kDa	kiloDalton
25	MicroCi	microCurie
	mg	miligramo
	microg	microgramo
	mL	mililitro
	microL	microlitro
30	M	molar
	mM	milimolar
	microM	micromolar
	nM	nanomolar

35 Preparación de IGF-1R para el uso en ensayo bioquímico

Clonación y expresión

- 40 Se usó ADNc humano como plantilla para la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la porción completa citoplasmática de IGF-1R (residuos aminoácido 960-1367), la cual incluye el dominio cinasa completo. La PCR se realizó usando la secuencia de cebador directo 5'-CTCGGATCCAGAAAGAGAAATAACAGCAGGCTG-3' (ID. SEC. N° 1) y la secuencia de cebador inverso 5'-CTCGGATCCTCAGCAGGTCGAAGACTGGGGCAGCGG-3' (ID. SEC. N° 2). Para facilitar las posteriores etapas de clonación, ambos cebadores comprenden una secuencia del sitio de la endonucleasa de restricción BamHI. El
- 45 producto de PCR se clonó en un vector de transferencia para el sistema de expresión del baculovirus, pVL1393 (Pharmingen), modificado para incluir la secuencia codificante de la proteína de fusión glutatión S-transferasa (GST) y un sitio de división PreScission corriente arriba del gen de interés insertado. La región codificante de GST-IGF-1R corresponde a residuos de ácido nucleico de 4168-6084. La proteína final codificada por el marco abierto de lectura corresponde a una proteína de fusión de 639 aminoácidos, mostrada en ID. SEC. N° 3 (Figura 1). Esta proteína de
- 50 fusión consiste esencialmente en un fragmento peptídico GST/linker N-terminal (aminoácidos 1-231 de SEC. ID. N° 3) y un fragmento C-terminal que representa el dominio intracelular de IGF-1R (aminoácidos 232-639 de SEC. ID. N° 3). La proteína de fusión tiene un peso molecular predicho de 72,8 kDa. Para obtener la proteína de fusión, células de insecto Sf21 (Invitrogen) se co-transfectaron con 2 microg de plásmido purificado y 1 microg de ADN de virus (BaculoGold™ Transfection Kit, Pharmingen), como se describe en el manual de instrucciones del Baculovirus (Pharmingen). Una primera amplificación del virus se llevó a cabo usando 600 microL de virus co-transfectado en 6 x 10⁵ Sf21 en un cultivo monocapa, en 12 ml de medio (medio de Grace TNM-FH – Pharmingen). Después de 3 días el medio se recogió, se centrifugó y se transfirió a un tubo estéril. Una segunda amplificación se preparó con el mismo método usando 2 ml en 3 x 10⁷ células, diluidas en 40 ml de medio. Para la tercera amplificación del virus, se usó 1 ml de sobrenadante de la segunda ronda para 3 x 10⁷ células diluidas en 40 ml de medio.

- 60 La expresión de proteína se realizó en células de insecto H5 infectadas con 14 ml de virus / 1 x 10⁹ células de insecto (MOI = 1,5) durante 65 h con agitación a 27°C. Las células se recogieron por centrifugación a 1200xg durante 10 minutos.

65 Purificación de proteínas

Las células se re-suspendieron en solución salina tamponada con fosfato (PBS), ditioneitol (DTT) 20 mM, CHAPS 0,2%, glicerol 20%, OVA 1 mM, cóctel de inhibidor de proteasa "completo" (1 comprimido/50 ml de tampón; Roche Diagnostics, Milán, Italia) y se lisaron por extrusión líquida con un homogeneizador Gaulin (Niro Soavi, Italia). El lisado se centrifugó a 14000xg durante 45 minutos y el sobrenadante se cargó en una columna que contenía 10 ml de Glutación Sefarosa (Amersham Biosciences). La columna se lavó primero con tampón PBS para 5 volúmenes de columna, después con Tris 100 mM pH 8,0, glicerol 20% para 5 volúmenes de columna y finalmente se eluyó con glutatión 10 mM en Tris 100 mM pH 8,0, glicerol 20%. Se recogieron fracciones de 10 ml y se reunieron fracciones ricas en proteína. Típicamente, 20 mg de proteína de fusión se recuperaron de 1×10^9 células y estofue típicamente >85% de pureza evaluado mediante SDS-PAGE seguido de tinción con Coomassie. La proteína purificada se almacenó a -80°C antes de su uso en ensayos bioquímicos.

Ensayo de inhibición para la actividad cinasa de IGF-1R

La actividad inhibidora de los inhibidores putativos de la cinasa y la potencia de los compuestos seleccionados se determinó usando un Ensayo de Proximidad por Escintilación (SPA) en formato de placa de microtitulación de 96 pocillos. El ensayo se basa en la capacidad de las perlas de SPA recubiertas con estreptavidina para capturar un péptido biotinilado que contiene un sitio que puede ser fosforilado por cinasa de IGF-1R. Cuando un fragmento fosfato marcado radioactivamente es transferido por la cinasa al péptido biotinilado, esto estimula la emisión de luz mediante las perlas, la cual se mide en un contador de escintilación.

Los componentes/tampones usados en el ensayo son como sigue. El tampón cinasa (tampón KB) se compuso de HEPES 50 mM, $MnCl_2$ 3 mM, DTT 1 mM, Na_3VO_4 3 microM, pH 7,9. El tampón enzima (tampón EB) se compuso de tampón KB conteniendo 0,6 mg/ml BSA (albúmina de suero bovino). Las perlas de escintilación SPA (Código de producto número RPNQ0007, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ USA) se prepararon como una suspensión 10 mg/ml en PBS conteniendo EDTA 32 mM, ATP no marcada 500 microM y Triton X-100 0,1%. Esta preparación se denomina a continuación "suspensión de perlas de SPA". El día del ensayo, IGF-1R se pre-fosforiló para linealizar la cinética de reacción. Para conseguirlo, la cantidad deseada de enzima se incubó durante 30 minutos a 28°C a una concentración de 1050 nM en tampón EB conteniendo ATP no marcado 100 microM. Tras la pre-incubación e inmediatamente antes del ensayo, esta preparación de cinasa de IGF-1R pre-fosforilada se diluyó a una concentración de enzima de 60 nM por adición de 16,5 volúmenes de tampón KB. Este enzima pre-fosforilado diluido se denomina a continuación "mezcla de enzima".

El sustrato usado en el ensayo fue un péptido biotinilado carboxi-terminalmente de la secuencia siguiente: KKKSPGEYVNIEFGGGGK-biotina (ID. SEC. N° 4). El péptido se obtuvo en lotes de pureza de péptido > 95% de American Peptide Company, Inc. (Sunnyvale, CA, USA). La "mezcla de ATP", mencionada a continuación, consistió en tampón KB conteniendo ^{33}P -ATP 6 nM (fosfato gamma marcado, Redivue™ Número de Código AH9968, 1000-3000 Ci/mmol, Amersham Biosciences Piscataway, NJ USA), ATP no marcado 18 microM, y sustrato peptídico biotinilado 30 microM. Esta solución contenía estos componentes a 3X su concentración de reacción final. Los compuestos que se tienen que ensayar se prepararon en DMSO 100% a concentraciones apropiadas. Estas preparaciones se diluyeron 33 veces usando tampón KB, de manera que se obtuviera el compuesto a 3X la concentración final deseada del ensayo en tampón KB conteniendo DMSO 3%. Esta preparación 3X se denomina a continuación "solución de trabajo compuesta".

Reacción cinasa: Las reacciones se llevaron a cabo en placas de microtitulación con fondo en U de 96 pocillos (como Producto #650101, Greiner Bio-One, Kremsmuenster Austria) en un volumen final de reacción de 30 microL. A cada pocillo de ensayo se añadieron 10 microL de "solución de trabajo compuesta" conteniendo la dilución apropiada del compuesto, seguido de 10 microL de "Mezcla ATP" y 10 microL de "Mezcla de Enzima", empezando así la reacción. Los contenidos del pocillo se mezclaron inmediatamente mediante pipeteado, y las reacciones se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente. Tras la incubación, las reacciones se pararon añadiendo 100 microL/pocillo de "suspensión de perlas SPA". Los pocillos se incubaron otros 15 minutos a temperatura ambiente, después se retiraron 110 microL de cada pocillo y se transfirieron a pocillos separados de placas de contaje de escintilación opacas de 96 pocillos (como OptiPlate™-96, PerkinElmer LAS, Inc. Boston, MA, USA), cada uno conteniendo 100 microL/pocillo de CsCl 5M. Tras 4 horas reposando a temperatura ambiente para permitir la flotación de las perlas SPA, estas placas se leyeron usando un contador de escintilación (Packard TopCount NXT, PerkinElmer LAS, Inc. Boston, MA, USA) para cuantificar la luz emitida por cada pocillo (proporcional a la cantidad de fosfato incorporado en el sustrato peptídico durante la reacción cinasa).

Muchas de las etapas descritas arriba, tales como aquellas que implican dilución de compuesto, adición de mezclas a la reacción y transferencia de la reacción acabada a placas de contaje, se pueden automatizar usando estaciones de pipeteado robotizadas (como los manipuladores de líquidos Multimek y Biomek, Beckman Coulter Inc.,

Fullerton CA, USA), y una curva de dilución de un inhibidor de cinasa conocido, como la estaurosporina, se pueden incluir de forma rutinaria como control positivo para la inhibición de IGF-1R.

Resultados: los datos se analizaron usando el paquete de software "Assay Explorer" (Elsevier MDL, San Leandro, CA 94577). Para concentraciones individuales del compuesto, la actividad inhibidora se expresó típicamente como

% de inhibición obtenido en presencia de compuesto, comparado con la actividad total del enzima obtenido cuando se omite el inhibidor.

- 5 Los compuestos que muestran la inhibición deseada se pueden seguir analizando para estudiar la potencia del inhibidor mediante el cálculo de IC_{50} . En este caso, los datos de inhibición obtenidos usando diluciones en serie del inhibidor se pueden ajustar mediante regresión no lineal usando la siguiente ecuación:

$$v = v_0 + \frac{(v_0 - v_b)}{1 + 10^{n(\log IC_{50} - \log [I])}}$$

- 10 donde v_b es la velocidad de la línea de base, v es la velocidad de la reacción observada, v_0 es la velocidad en ausencia de inhibidores, y $[I]$ es la concentración de inhibidor.

Ensayo de inhibición para la actividad de aurora-2-cinasa

- 15 La actividad de inhibición y la potencia de los compuestos seleccionados se determinó mediante un ensayo basado en el uso de perlas del ensayo de proximidad de escintilación con estreptavidina (Amersham-Pharmacia biotech) realizado en una placa de 96 pocillos. Al final de la reacción, el sustrato peptídico biotinilado se capturó con las perlas y posteriormente se dejó estratificar usando CsCl.
- 20 Cuando una fracción fosfato marcada radioactivamente se transfirió mediante la cinasa al péptido unido a las perlas, se midió la luz emitida en un contador de escintilación.

El ensayo de inhibición de la actividad Aurora-2 se realizó en placa de 96 pocillos de acuerdo con el protocolo siguiente.

- 25 **Reacción cinasa:** 8 micro péptidos biotinilados (4 repeticiones de LRRWSLG), ATP 10 microM (0,5 microCi ^{33}P -ATP), Aurora2 10 nM, inhibidor 10 microM en un volumen final de 60 microL de tampón (HEPES 50 mM pH 7,0, $MgCl_2$ 10 mM, DTT 1 mM, BSA 0,125 mg/ml, ortovanadato 3 microM) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, la reacción se paró y el péptido biotinilado se capturó añadiendo 100 microL de suspensión de perlas.
- 30

Estratificación: 100 microL de CsCl 7,5 M se añadieron a cada pocillo y se dejaron reposar una hora antes de contar la radioactividad en el Top-Count Instrument.

- 35 **Resultados:** los datos se analizaron y expresaron como % de inhibición referido a la actividad total del enzima (=100%).

Todos los compuestos que mostraron inhibición $\geq 60\%$ se siguieron analizando para estudiar la potencia del inhibidor mediante el cálculo de IC_{50} .

- 40 El protocolo usado fue el mismo que se describe arriba, excepto que se usó la dilución en serie del inhibidor. Los datos experimentales se ajustaron mediante regresión no lineal usando la siguiente ecuación:

$$v = v_0 + \frac{(v_0 - v_b)}{1 + 10^{n(\log IC_{50} - \log [I])}}$$

- 45 donde v_b es la velocidad de la línea de base, v es la velocidad de la reacción observada, v_0 es la velocidad en ausencia de inhibidores, y $[I]$ es la concentración de inhibidor.

Análisis western blot de fosforilación de receptores tras la estimulación con IGF-1 en células de cáncer de mama humanas MCF-7

- 50 Se sembraron células MCF-7 (ATCC# HTB-22) en placas de cultivo de 12 pocillos a 2×10^5 células/pocillo en medio E-MEM (MEM + BSS de Earle + glutamina 2 mM + aminoácidos no esenciales 0,1 mM) + FCS 10%, y se incubó durante una noche a 37°C, CO_2 5%, 100% humedad relativa. Se privó de alimento a las células reemplazando E-MEM + FCS 10% con E-MEM + BSA 0,1%, y se incubó durante una noche. Después de esta incubación, los pocillos se trataron con las concentraciones deseadas del compuesto por una hora a 37°C, y se estimularon con IGF-1 humano recombinante 10 nM (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) durante 10 min a 37°C. Después se lavaron las
- 55

células con PBS y se lisaron en 100 μ L/pocillo de tampón de lisado (reactivo de extracción de proteínas de mamíferos M-PER [Producto #78501, Pierce, Rockford, IL, USA] + EDTA 10 mM + cóctel inhibidor de proteasa [Producto Sigma-Aldrich #P8340] + cóctel inhibidor de fosfatasa [Productos Sigma-Aldrich #P2850 + #P5726]). Las células lisadas se limpiaron mediante centrifugación a 10000 \times g durante 5 minutos, y 100 microg/línea de lisado proteínico limpio se corrieron en geles NuPAGE (NuPAGE 4-12% geles de 10 líneas Bis-Tris, Invitrogen) con tampón de electroforesis MOPS, luego se transfirieron a filtros de nitrocelulosa Hybond ECL (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) utilizando cámaras Mini PROTEAN II (Laboratorios Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Filtros impregnados con la proteína transferida se incubaron durante una hora en tampón bloqueante (TBS + BSA 5%+ Tween 20, 15%), y se sondeó durante 2 horas en el mismo tampón conteniendo 1/1000 de anticuerpo de conejo anti-fosfo-IGF-1R Tyr 1131/InsR Tyr 1146 (producto #3021, Tecnología de señalización de células, Beverly, MA, USA) para la detección de IGF-1R fosforilado, o dilución 1/1000 de anticuerpo IGF-Ir β (H-60) de conejo (producto #sc-9038, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) para la detección total de la cadena de IGF-1R β . En cualquiera de los dos casos, los filtros se lavaron durante 30 minutos con numerosos cambios de TBS + Tween 20, 15%, y se incubaron durante 1 hora en tampón de lavado conteniendo una dilución 1/5000 de peroxidasa de rábano conjugada con IgG anti-conejo (Amersham, producto #NA934), y entonces se lavó de nuevo y se reveló utilizando el sistema de quimioluminiscencia ECL (Amersham) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. A menos que se especifique de otro modo, los reactivos utilizados fueron de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

20 **Fosforilación de proteína ribosomal S6 inducida por factor de crecimiento en fibroblastos primarios humanos**

Se utilizó la fosforilación de la proteína ribosomal S6 en respuesta a la estimulación mediante factor de crecimiento de fibroblastos de células dérmicas humanas normales (NHDF) para determinar la potencia del compuesto en la inhibición de la transducción de señal inducida por IGF-1 en células, y la selectividad frente a los estímulos de EGF y PDGF. Las células de NHDF se obtuvieron de PromoCell (Heidelberg, Alemania), se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada con CO₂ 5% en medio completo de crecimiento de fibroblastos (PromoCell). Para el ensayo se sembró NHDF en placas de cultivo de tejido de 384 pocillos (placas negras de fondo plano y transparente; Matrix Technologies Inc., Hudson, NH, USA) a una densidad de 5000 células/pocillo en un medio libre de suero, conteniendo 0,1% de albumina de suero bovino (BSA) e incubado durante 5 días. Las células privadas de alimento se trataron durante 1 hora con las dosis deseadas de los compuestos y luego se estimularon durante 2 horas con IGF-1 10 nM (Invitrogen Corp., CA, USA), EGF 10 nM (Gibco BRL, USA), o bien, con PDGF-B/B 1 nM (Roche Diagnostics GmbH, Alemania). Después se fijaron las células en PBS/paraformaldehído 3,7% durante 20 minutos a temperatura ambiente, se lavó dos veces con PBS y se permeabilizó con PBS/Triton X-100 0,3% durante 15 minutos. Los pocillos se saturaron luego con PBS/leche deshidratada desgrasada 1% (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) durante 1 hora, y entonces se sondearon durante 1 hora a 37°C con anticuerpo anti-fosfo-S6 (Ser 235/236) (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA, cat. #2211) con una dilución 1/200 en PBS/leche 1%/Tween 20 0,3%. Se lavaron entonces los pocillos dos veces con PBS, y se incubaron durante 1 hora a 37 °C con PBS/leche 1%/Tween 20 0,3% + 1 microg/mL DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) + 1/500 anticuerpo secundario conjugado-Cy5TM cabra anti-conejo (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK). Los pocillos se lavaron dos veces con PBS, y se dejaron 40 microL de PBS en cada pocillo para análisis de inmunofluorescencia. Las imágenes de fluorescencia en los canales de DAPI y Cy5TM, se adquirieron, guardaron y analizaron automáticamente utilizando un instrumento Cellomics ArrayscanTM IV (Cellomics, Pittsburgh, USA); Se utilizó el algoritmo Cellomics Cytotoxicity para cuantificar la fluorescencia citoplasmática asociada con fosfo-S6 (parámetro de señal de Cy5TM: "media lisado masa-pH") para cada célula en 10 campos/pocillo, y eventualmente expresada como valor medio de la población. A menos que se especifique de otro modo, los reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Los datos de los ensayos bioquímicos y basados en células para los compuestos representativos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Compuesto	IGF1R IC ₅₀ (μ M)	Inhibición de fosforilación S6 IGF1R-inducida
	Ensayo bioquímico	IC ₅₀ (μ M)
Ejemplo 24	0,34	3,05

El mismo compuesto se ensayó para la inhibición de fosforilación de IGF1R en células MCF-7 IGF1-inducida y los resultados se muestran en la figura 2.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar, bien como agentes individuales, o bien, alternativamente, en combinación con tratamientos anticancerígenos conocidos como radioterapia o régimen de quimioterapia en combinación con, por ejemplo, agentes antihormonales tales como antiestrógenos, antiandrógenos e inhibidores de aromatasa, inhibidores de topoisomerasa I y topoisomerasa II, agentes cuya diana son

microtúbulos, agentes basados en platino, agentes alquilantes, agentes intercalantes de ADN o dañinos para el mismo, antimetabolitos antineoplásticos, otros inhibidores de cinasas, otros agentes anti-angiogénicos, inhibidores de cinesinas, anticuerpos monoclonales terapéuticos, inhibidores de mTOR, inhibidores de histona deacetilasa, inhibidores de farnesil transferasa e inhibidores de la respuesta hipóxica.

5 Si se formula como una dosis fija, dicha combinación de productos emplea los compuestos de esta invención dentro de los intervalos de dosificación descritos más adelante y el otro agente farmacéuticamente activo dentro del intervalo de las dosificaciones aprobadas.

10 Los compuestos de fórmula (I) pueden ser utilizados secuencialmente con agentes anticancerígenos conocidos en aquellos casos en que la combinación en la formulación es inapropiada.

Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención, adecuados para la administración a mamíferos, p.ej. humanos, pueden ser administrados a través de las vías usuales y el nivel de dosificación depende de la edad, el peso y las condiciones del paciente y la vía de administración.

15 Por ejemplo, una dosificación adecuada adoptada para la administración oral de un compuesto de fórmula (I) puede estar en el intervalo de 10 a 500 mg por dosis, desde 1 a 5 veces diarias. Los compuestos de la invención pueden ser administrados en una variedad de formas de dosificación, p.ej. oral, en forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos recubiertos con película o azúcar, soluciones líquidas o suspensiones; rectalmente en forma de supositorios; parentalmente, p.ej., intramuscularmente, o mediante inyección o infusión intravenosa, intratecal y/o intraespinal.

20 La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, el cuál puede ser un portador o un diluyente.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención se preparan usualmente siguiendo los métodos convencionales y se administran en una forma farmacéuticamente adecuada. Por ejemplo, las formas orales sólidas pueden contener, junto con el principio activo, diluyentes, p.ej., lactosa, dextrosa, sacarosa, sucrosa, celulosa, almidón de maíz o de patata; lubricantes, p.ej., sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, p.ej., almidones, goma arábiga, gelatina de metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinil pirrolidona; agentes desintegrantes, p.ej., almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato sódico de almidón; mezclas efervescentes; tintes; edulcorantes; agentes humidificantes como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias inocuas y farmacológicamente inactivas utilizadas en formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas se pueden fabricar de forma conocida, por ejemplo, mediante procesos de mezcla, granulado, compresión, recubrimiento de azúcar o de película. Las dispersiones líquidas para la administración oral pueden ser, p.ej., siropes, emulsiones y suspensiones. Como ejemplo, los siropes pueden contener, como portador, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y sorbitol.

40 Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplo de portadores, goma natural, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o alcohol polivinílico.

45 Las suspensiones o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el principio activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p.ej., agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, p.ej., propilenglicol y, si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína.

50 Las soluciones para las inyecciones intravenosas o infusiones pueden contener, como portador, agua estéril o preferentemente pueden encontrarse en forma de soluciones estériles, acuosas, isotónicas, salinas o pueden contener propilenglicol como portador.

Los supositorios pueden contener, junto con el principio activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p.ej., mateca de cacao, polietilenglicol, un surfactante éster de ácido graso sorbitan polioxietileno o lecitina.

55 Con la intención de ilustrar mejor la presente invención, sin establecer ninguna limitación, se presentan los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

Métodos generales

60 La cromatografía flash se realizó en gel de sílice (Merck grado 9395, 60A). HPLC se realizó en columna Waters X Terra RP 18 (4,6 x 50 mm, 3,5 μ m) utilizando un sistema HPLC Waters 2790 equipado con un detector Waters PDA 996 y espectrómetro de masas de cuadrupolo simple modelo ZQ Micromass, equipado con una fuente de iones de electrospray (ESI). La fase móvil A fue tampón acetato de amonio 5 mM (pH 5,5 con ácido acético/acetronitrilo 95:5), y la fase móvil B fue agua-acetonitrilo (5:95). El gradiente de 10 a 90% en B en 8 minutos, manteniendo a 90% en B durante 2 minutos. Detección UV a 220 nm y 254 nm. Flujo de 1 mL/min. Volumen de inyección de 10 μ L. Escaneo

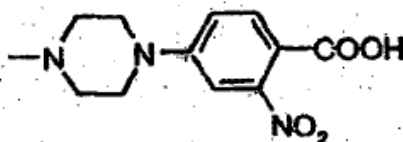
completo de un intervalo de masas de 100 a 800 amu. El voltaje de capilaridad fue de 2,5 kV; la temperatura de la fuente fue de 120 °C; el cono fue de 10 V. Los tiempos de retención (HPLC r.t.) se dan en minutos a 220 nm o a 254 nm. Las masas se dan como relación m/z.

- 5 En caso necesario, los compuestos se purificaron mediante HPLC preparativa en una columna Waters Symmetry C18 (19 x 50 mm, 5 μ m) o en una columna Waters X Terra RP 18 (30 x 150 mm, 5 μ m) utilizando un HPLC preparativo Waters 600 equipado con un detector Waters PDA 996 y un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple modelo ZMD Micromass, ionización de electrospray, modo positivo. La fase móvil A fue agua/ácido trifluoroacético 0,01%, y la fase móvil B fue acetonitrilo. El gradiente fue de 10 a 90% en B en 2 min, manteniendo a 90% en B durante 2 min. El flujo fue de 20 mL/min. En alternativa, la fase móvil A fue agua/NH₃O, 1%, y la fase móvil B fue acetonitrilo. El gradiente fue de 10 a 100% en B en 8 min, manteniendo a 100% en B durante 2 min. El flujo fue de 20 mL/min.

- 15 La espectrometría 1H-RMN se realizó en un Mercury VX 400 operando a 400,45 MHz equipado con una sonda de doble resonancia de 5 mm [1H (15N-31P) ID_PFG Varian]

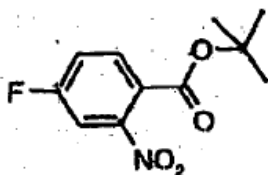
Ejemplo 1

- 20 Preparación de ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoico



Etapa 1

- 25 Preparación del éster terc-butílico del ácido 4-fluoro-2-nitro-benzoico

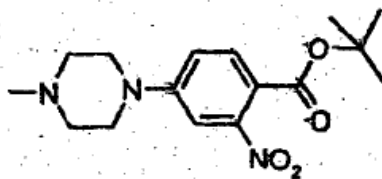


- 30 Una solución de ácido 4-fluoro-2-nitro-benzoico (10 g, 54 mmol), di-terc-butil-dicarbonato (2 eq., 23,6 g, 108 mmol) y 4-(N,N-dimetilamino)piridina (0,3 eq., 1,98g, 16,2 mmol) en terc-butanol (100 mL) y diclorometano (100 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se diluyó entonces con acetato de etilo (500 mL), se lavó con HCl 1N (500 mL), agua (500 mL), salmuera (500 mL), se secó con sulfato sódico y se evaporó hasta sequedad. El compuesto del título se obtuvo como aceite amarillo pálido (cuantitativo) y se utilizó en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

- 35 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 8,04 (dd, J=8,47, 2,50 Hz, 1H) 7,95 (dd, J=8,66, 5,37 Hz, 1H) 7,71 (ddd, J=8,66, 8,17, 2,56 Hz, 1H) 1,51 (s, 9H)

Etapa 2

- 40 Preparación del éster terc-butílico del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoico

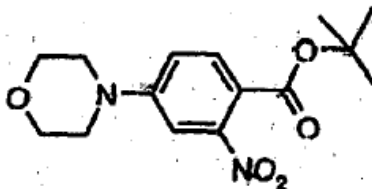


- 45 Una solución de éster terc-butílico del ácido 4-fluoro-2-nitro-benzoico (13 g, 54 mmol) y N-metil-piperazina (17 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (800 mL) y se mantuvo bajo agitación magnética durante 20 horas. El sólido resultante se filtró, se lavó concienzudamente con agua y se secó en vacío a 40 °C. El compuesto del título se obtuvo como sólido amarillo (16,4 g, rendimiento 94%), y se utilizó directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,69 (d, J=8,90 Hz, 1H) 7,29 (d, J=2,58 Hz, 1H) 7,15 (dd, J₁=8,90 Hz, J₂=2,56 Hz, 1H) 3,37 (m, 4H) 1,46 (s, 9H)

5 Basándose en el ejemplo 1, y usando la amina adecuada, se obtuvieron los siguientes compuestos:

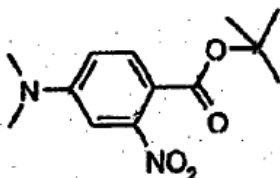
Éster terc-butílico del ácido 4-morfolin-4-il-2-nitro-benzoico



10 ¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,71 (d, J=8,77 Hz, 1H) 7,31 (d, J=2,44 Hz, 1H) 7,17 (dd, J₁=8,77 Hz, J₂=2,44 Hz, 1H) 3,73 (m, 4H) 1,46 (s, 9H).

Éster terc-butílico del ácido 4-dimetilamino-2-nitro-benzoico

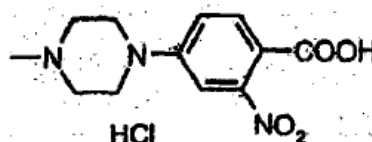
15



20 ¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,69 (d, J=8,90 Hz, 1H) 6,99 (d, J=2,68 Hz, 1H) 6,89 (dd, J₁=8,90 Hz, J₂=2,68 Hz, 1H) 3,04 (s, 6H) 1,46 (s, 9H).

Etapa 3

Preparación del clorhidrato del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoico



25

Una mezcla de terc-butyl 4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoato (16,4 g, 51 mmol) y HCl 37% (100 mL) en 1,4-dioxano (200 mL) se agitaron a temperatura ambiente durante 4 horas. El sólido resultante se filtró, se lavó concienzudamente con 1,4-dioxano y se secó en vacío a 45°C. El compuesto del título se obtuvo como sólido amarillo pálido (13,45 g, rendimiento 87,5%) y se utilizó directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

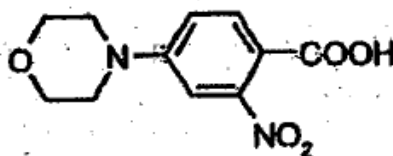
30

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,27 (bs, 1H) 7,81 (d, J=8,90 Hz, 1H) 7,40 (d, J=2,69 Hz, 1H) 7,24 (dd, J₁=8,90 Hz, J₂=2,69 Hz, 1H) 4,13 (bs, 2H), 3,55 – 3,06 (bs, 6H) 2,83 (s, 3H).

35

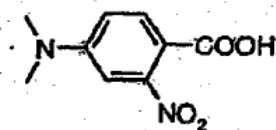
Los siguientes compuestos se obtuvieron operando de forma análoga:

Ácido 4-morfolin-4-il-2-nitro-benzoico



40

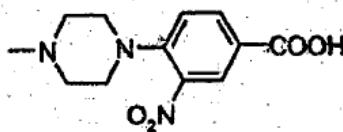
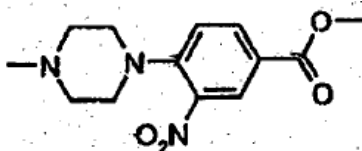
¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,98 (bs, 1H) 7,78 (d, J=8,91 Hz, 1H) 7,30 (d, J=2,44 Hz, 1H) 7,15 (dd, J₁=8,91 Hz, J₂=2,44 Hz, 1H) 3,73 (m, 4H) 3,33 (m, 4H).

Ácido 4-dimetilamino-2-nitro-benzoico

5 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,81 (bs, 1H) 7,72 (d, J=8,90 Hz, 1H) 6,96 (d, J=2,57 Hz, 1H) 6,84 (dd, J1=8,90 Hz, J2=2,58 Hz, 1H) 3,01 (s, 6H).

Ejemplo 2**Preparación de ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoico**

10

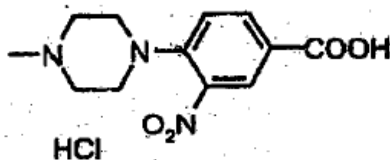
**Etapa 1****15 Preparación del éster metílico del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoico**

20 Una mezcla del éster metílico del ácido 4-fluoro-3-nitro-benzoico (10 g, 50,2 mmol), K_2CO_3 (7g, 50,2 mmol) y 1-metil-piperazina (11,2 mL, 100,4 mmol, 2 eq.) en 200 mL de N,N-dimetilformamida se agitó a 100 °C durante 1 hora. Se evaporó el disolvente y se recogió el residuo con agua, se extrajo con acetato de etilo, se secó con sulfato sódico y se evaporó a sequedad. El crudo se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, utilizando una mezcla de diclorometano-MeOH 9:1 como eluyente, proporcionando 14 g del compuesto del título como aceite naranja.

25 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 8,30 (d, J=2,1 Hz, 1H) 8,03 (dd, J1=2,1 Hz, J2=8,8 Hz, 1H) 7,36 (d, J=8,8 Hz, 1H) 3,86 (s, 3H) 3,18 (m, 4H) 2,49 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H).

Etapa 2

30

Preparación de clorhidrato del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoico

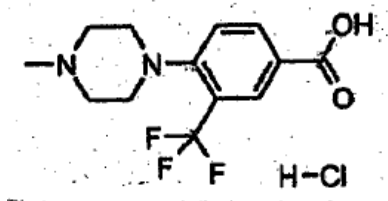
35 Una solución de éster metílico del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoico (1,8 g, 6,4 mmol) en 35 mL de HCl 5N se agitó a 55°C durante 16 h. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad proporcionando el compuesto del título (cuantitativo) que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

40 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 13,09(bs, 1H) 10,25 (bs, 1H) 8,38 (d, J=2,1 Hz, 1H) 8,10 (dd, J1=2,1 Hz, J2=8,8 Hz, 1H) 7,46 (d, J=8,8 Hz, 1H) 3,6 – 3,31 (m, 8H) 2,87 (s, 3H).

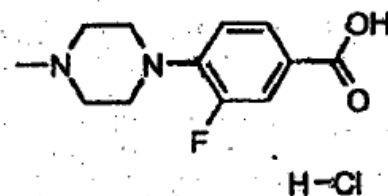
Aplicando un procedimiento análogo al descrito anteriormente, se prepararon los siguientes compuestos:

Clorhidrato del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzoico

45



Clorhidrato del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-fluoro-benzoico

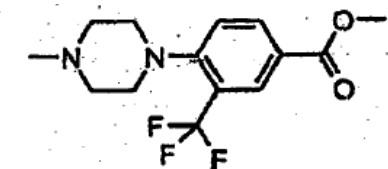


5

Etapa 1

Éster metílico del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzoico

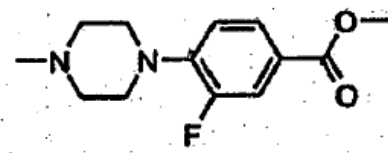
10



1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 8,19 – 8,14 (m, 2H) 7,56 (d, $J=8,3$ Hz, 1H) 3,88 (s, 3H) 3,02 (m, 4H) 2,52 (m, 4H) 2,28 (s, 3H).

15

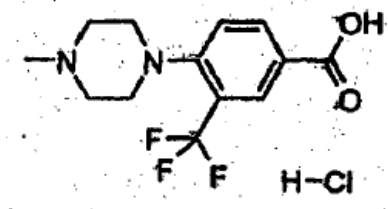
Éster metílico del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-fluoro-benzoico



20 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 7,71 (dd, $J_1=1,9$ Hz, $J_2=8,4$ Hz, 1H) 7,60 (dd, $J_1=1,9$ Hz, $J_2=14,0$ Hz, 1H) 7,12 (bt, $J=8,7$ Hz, 1H) 3,83 (s, 3H) 3,19 (m, 4H) 2,51 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H)

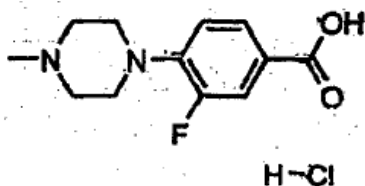
Etapa 2

25 Clorhidrato del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzoico



30 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,17 (bs, 1H) 8,22 (dd, $J_1=2,0$ Hz, $J_2=8,4$ Hz, 1H) 8,18 (d, $J=2,0$ Hz, 1H) 7,64 (d, $J=2,0$ Hz, 1H) 3,60-3,05 (m, 8H) 2,89 (s, 3H).

Clorhidrato del ácido 4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-fluoro-benzoico

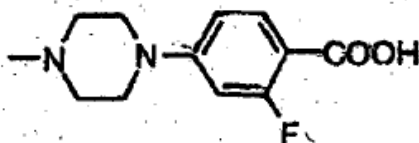


1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,20 (bs, 1H) 7,73 (dd, $J_1=1,9$ Hz, $J_2=8,3$ Hz, 1H) 7,63 (dd, $J_1=1,9$ Hz, $J_2=13,7$ Hz, 1H) 7,19 (bt, $J=8,7$ Hz, 1H) 3,7-3,0 (m, 8H) 2,78 (s, 3H).

5

Ejemplo 3

Preparación de ácido 2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico

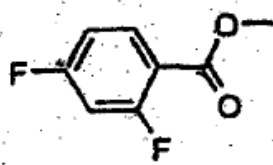


10

Etapa 1

Preparación del éster metílico del ácido 2,4-difluoro-benzoico

15



Se añadió a 100 mL de metanol cloruro de 2,4-difluoro-benzoilo (10 mL, 79,3 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente se evaporó proporcionando el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (cuantitativo).

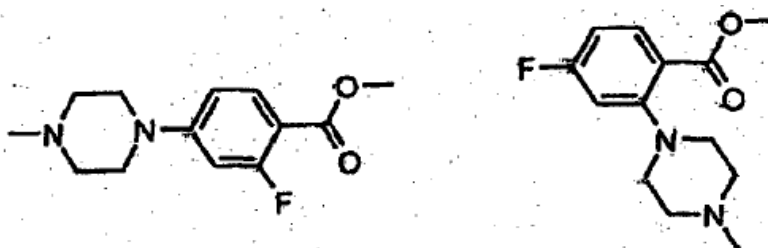
20

1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 8,0 (m, 1H) 7,44 (m, 1H) 7,25 (m, 1H) 3,87 (s, 3H).

Etapa 2

25

Preparación del éster metílico del ácido 2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico y éster metílico del ácido 4-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico



30

Una mezcla del éster metílico del ácido 2,4-difluoro-benzoico (4,5 g, 26,2 mmol), 1-metil-piperazina (4,36 mL, 39,2 mmol, 1,5 eq.) y K_2CO_3 (3,62 g, 26,2 mmol, 1 eq.) en N,N-dimetilformamida (10 mL) se agitó a 100 °C durante 4 horas. La mezcla se vertió en 200 mL de agua y se extrajo con 150 mL de acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se lavó con agua (100 mL), se secó con sulfato sódico y se evaporó a sequedad. El crudo se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, utilizando una mezcla de diclorometano/MeOH/ NH_4OH 30% 95:5:0,5 como eluyente proporcionando 1,65 g de éster metílico del ácido 2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico (primer eluido, sólido amarillo pálido) y 3,04 g de éster metílico del ácido 4-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico (segundo eluido, aceite amarillo).

35

40 Éster metílico del ácido 2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico:

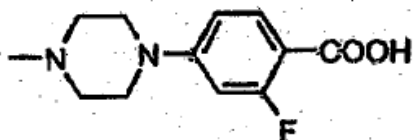
¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,72 (t, J=9,0 Hz, 1H) 6,84-6,74 (m, 2H) 3,78 (s, 3H) 3,4-3,3 (m, 4H) 2,46 (m, 4H) 2,25 (bs, 3H).

Éster metílico del ácido 4-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico:

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,68 (m, 1H) 6,88 (m, 1H) 6,80 (m, 1H) 3,80 (s,3H) 3,01 (m, 4H) 2,49 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H).

Etapa 3

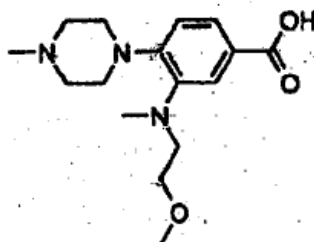
Preparación de ácido 2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico



Una mezcla de 4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-fluoro-benzoato de metilo (800 mg, 3,17 mmol), NaOH 1N (6 ml) y MeOH (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante una noche, entonces se añadió HCl 1N (6 mL). Se evaporó entonces la solución a sequedad proporcionando una mezcla del compuesto del título y NaCl, la cual se utilizó directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

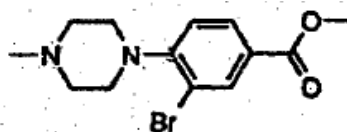
Ejemplo 4

Preparación del ácido 3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico



Etapa 1

Preparación del éster metílico del ácido 3-bromo-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico



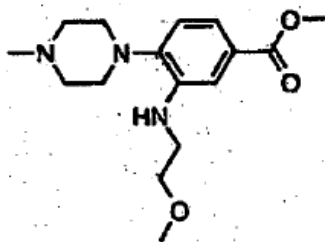
A una solución de 5g (22,8 mmol) de ácido 3-bromo-4-fluorobenzoico en 100 mL de metanol se añadió 1 mL de ácido sulfúrico y la mezcla de reacción se dejó reposando a temperatura ambiente durante 48 h. Se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se recogió con diclorometano, se lavó con una disolución saturada de bicarbonato sódico, agua, salmuera y se secó con sulfato sódico anhidro. El disolvente se evaporó y el residuo se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificar.

El crudo del éster metílico del ácido 3-bromo-4-fluorobenzoico se disolvió en 120 mL de N,N-dimetilformamida, se añadieron 4,32 g (43,1 mmol, 2 eq) de N-metil-piperazina y 4,46 g (32,3 mmol, 1,5 eq) de carbonato potásico y se calentó la mezcla de reacción a 80°C durante 8 horas. La mezcla se vertió en 300 mL de agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato sódico y se evaporó a sequedad.

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 8,08 (d, J=2,02 Hz, 1H) 7,91 (dd, J=2,02 Hz, 8,42 Hz, 1H) 7,25 (dd, J=8,42 Hz, 1H) 3,84 (s, 3H) 3,10 (m, 4H) 2,52 (m, 4H) 2,27 (s, 3H).

Etapa 2

Preparación del éster metílico del ácido 3-(2-metoxi-etilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico

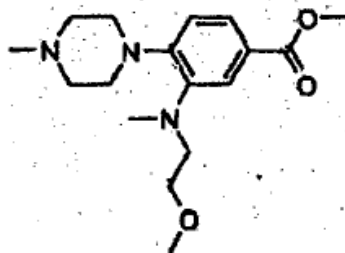


A una solución de 500 mg (1,59 mmol, 1 eq.) de éster metílico del ácido 3-bromo-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico en 5 mL de dioxano, en matraz de dos bocas de fondo redondo se añadieron bajo atmósfera de argón 780 mg (2,38 mmol, 1,5 eq.) de carbonato de cesio, 30 mg de BINAP (0,047 mmol, 0,03 eq.), 14,55 mg de Pd₂(dba)₃ (0,0159 mmol, 0,1 eq.), 285 μ L de 2-metoxi-etanol-amina (1,4 eq.) y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 48 h. La mezcla se evaporó entonces y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna flash, utilizando diclorometano-metanol 95:5 como eluyente, proporcionando 280 mg del producto deseado.

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,29 (dd, J=1,97 Hz, 8,05 Hz, 1H) 7,15 (d, J=1,97 Hz, 1H) 7,04 (d, J=8,05 Hz, 1H) 4,93 (t, J=5,78 Hz, 1H) 3,81 (s, 3H) 3,58 (t, J=5,50 Hz, 2H) 3,31 (s, 3H) 3,26 (t, J=5,50 Hz, 2H) 2,88 (m, 4H) 2,55 (m, 4H) 2,30 (s, 3H).

Etapa 3

Preparación del éster metílico del ácido 3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico

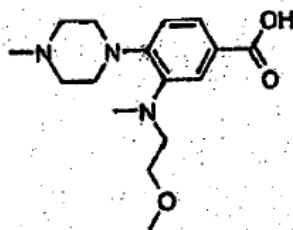


A una solución de 170 mg de éster metílico del ácido 3-(2-metoxi-etilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico (0,55 mmol, 1 eq.) en 5 mL de ácido acético se añadieron 3 mL de una solución acuosa de formaldehído y la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente; una solución de NaCNBH₃ (680 mg, 11 mmol, 20 eq.) en 3 mL de MeOH se añadió a 0°C y la solución se agitó durante 5 minutos. Se eliminó el disolvente y el crudo se lavó con agua y diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se evaporaron y el crudo se purificó mediante cromatografía de columna flash, utilizando diclorometano/metanol 95:5 como eluyente, proporcionando 150 mg del compuesto deseado.

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,52 (dd, J=2,04 Hz, 8,29 Hz, 1H) 7,49 (d, J=2,04 Hz, 1H) 6,97 (d, J=8,29 Hz, 1H) 3,81 (s, 3H) 3,34 (m, 11H) 2,81 (s, 3H) 2,52 (m, 4H) 2,29 (s, 3H).

Etapa 4

Preparación de ácido 3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico



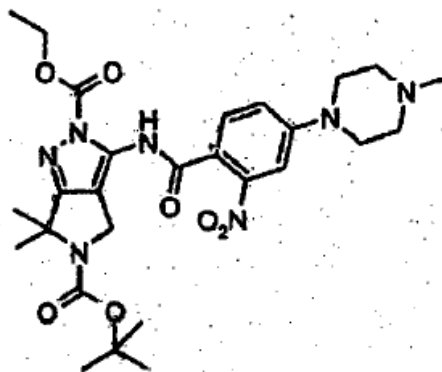
A una solución de 150 mg (0,47 mmol) de éster metílico de 3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico en 5 mL de metanol se añadieron 0,9 mL (0,93 mmol, 2 eq.) de una solución de NaOH 1N y la mezcla de reacción se dejó reposar durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió a la solución 0,47 mL de HCl 2N, se evaporó el disolvente, y el residuo se secó a 70°C en vacío. El compuesto se utilizó así en la etapa subsiguiente.

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 7,51 (m, 2H) 6,95 (d, J=8,35 Hz, 1H) 3,34 (m, 8H) 3,19 (s, 3H), 2,80 (s, 3H),

2,52 (m, 4H) 2,30 (s, 3H).

Ejemplo 5

- 5 **Preparación del éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoilamino]-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico**



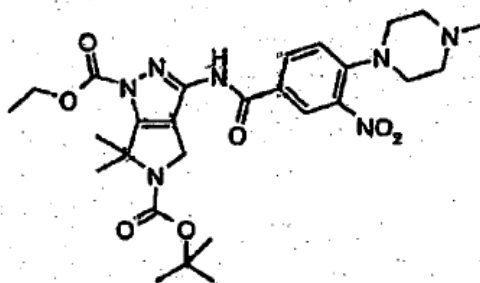
- 10 El ácido 4-(4-metilpiperazin-1-il)-2-nitro-benzoico (15 g, 49,7 mmol) en tetrahidrofurano seco se agitó con cloruro de tionilo (5 eq., 18,1 mL, 248,7 mmol) y unas pocas gotas de N,N-dimetilformamida a 80°C durante aproximadamente 14 horas. Después de eliminar el disolvente bajo vacío, el material crudo se añadió por porciones a una solución de éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-amino-6,6-dimetil-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico (16,1 g, 49,7 mmol) y N,N-dietilisopropilamina (5 eq., 43,4 mL, 248,7 mmol) en 1,4-dioxano (200 mL) mantenida bajo agitación magnética a 80°C. La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a 80°C. Después de eliminar el disolvente, el material crudo se diluyó con diclorometano (200 mL), se lavó con una disolución saturada de bicarbonato sódico (200 mL), se secó con sulfato sódico, se evaporó a sequedad y se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice utilizando acetona como eluyente. El compuesto del título se obtuvo como polvo amarillo claro (13,5 g, rendimiento 47%)

- 20 ¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,70, 10,67 (s, 1H) 7,68, 7,66 (d, J₁=8,78 Hz, 1H) 7,48 (bs, 1H) 7,30 (dd, J₁=8,78 Hz, J₂=2,56 Hz, 1H) 4,47-4,39 (m, 4H) 3,41 (m, 4H) 2,52 (m, 4H) 2,27 (s, 3H) 1,63, 1,62 (s, 6H) 1,49, 1,46 (s, 9H) 1,37, 1,36 (t, J=7,07 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

- 25 Basado en el ejemplo 5, y utilizando el cloruro de ácido adecuado, se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 6-15:

Ejemplo 6

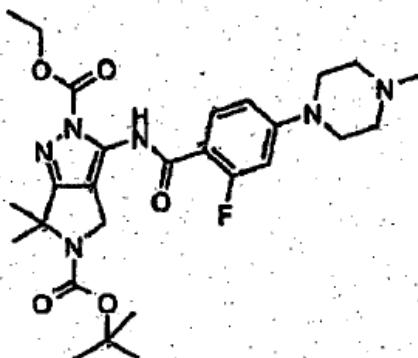
- 30 **Éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico**



- 35 ESI(+) MS: m/z 572 (MH⁺)

Ejemplo 7

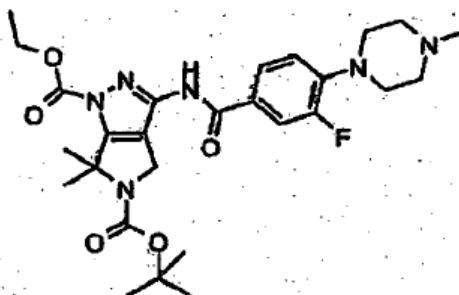
- 40 **Éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-[2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-6,6-dimetil-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico**



5 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,05, 11,02 (s, 1H) 7,86, 7,72 (m, 1H) 6,95-6,86, 6,83-6,75 (m, 2H) 4,61, 4,58 (s, 2H) 4,47 (q, J=7,07 Hz, 2H) 3,43-3,27 (m, 4H) 2,50-2,43 (m, 4H) 2,26 (bs, 3H) 1,63, 1,61 (s, 6H) 1,50, 1,48 (s, 9H) 1,38 (t, J=7,07 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 8

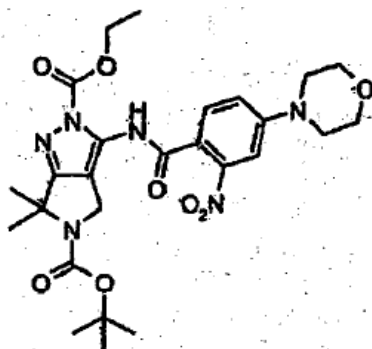
10 **Éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-[3-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-6,6-dimetil-4,6-dihidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico**



15 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,34 (s, 1H) 7,9-7,8 (m, 2H) 7,10 (m, 1H) 4,49 (bs, 2H) 4,45 (q, J=7,2 Hz, 2H) 3,18 (m, 4H) 2,52 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H) 1,78, 1,77 (2s, 6H) 1,50, 1,47 (2s, 9H) 1,37 (t, J=7,2 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 9

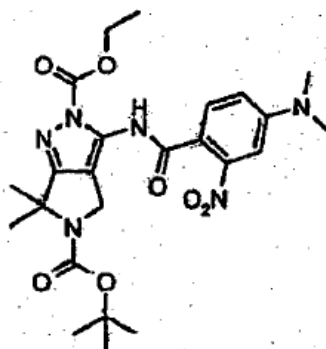
20 **Éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 6,6-dimetil-3-(4-morfolin-4-il-2-nitro-benzoilamino)-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico**



25 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,68 (s, 1H) 7,68, 7,66 (d, J=8,65 Hz, 1H) 7,47 (d, 1H) 7,29 (dd, J=8,65 Hz, J2=2,56 Hz, 1H) 4,45-4,36 (m, 4H) 3,73 (m, 4H) 3,34 (m, 4H) 1,61, 1,59 (s, 6H) 1,47, 1,43 (s, 9H) 1,34, 1,33 (t, J=7,08 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 10

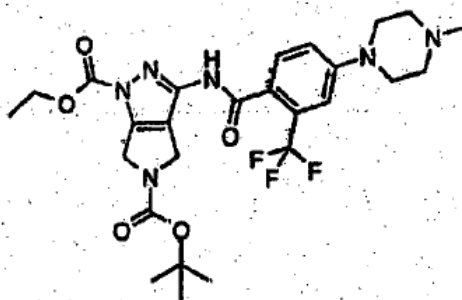
30 **Éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-(4-dimetilamino-2-nitro-benzoilamino)-6,6-dimetil-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico**



5 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d_6): 10,65, 10,62 (bs, 1H) 7,67, 7,66 (d, $J_1=8,70$ Hz, 1H) 7,18 (bs, 1H) 7,01 (dd, $J_1=8,70$ Hz, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 4,47-4,41 (m, 4H) 3,07 (s, 6H) 1,63, 1,61 (s, 6H) 1,49, 1,46 (s, 9H) 1,37, 1,36 (t, $J=7,07$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 11

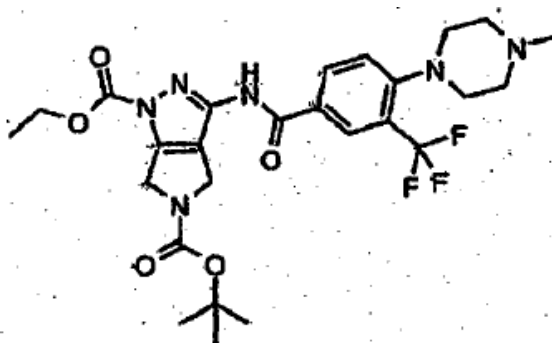
10 **Éster 1-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzoilamino]-4,6-dihidro-pirrol[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxílico**



15 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d_6): 11,39 (s, 1H) 7,52 (m, 1H) 7,21 (m, 2H) 4,60 (m, 2H) 4,47 (m, 2H) 4,40 (q, $J=7,07$ Hz, 2H) 3,41-3,27 (m, 4H) 2,53-2,46 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H) 1,47, 1,46 (s, 9H) 1,35, 1,34 (t, $J=7,07$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 12

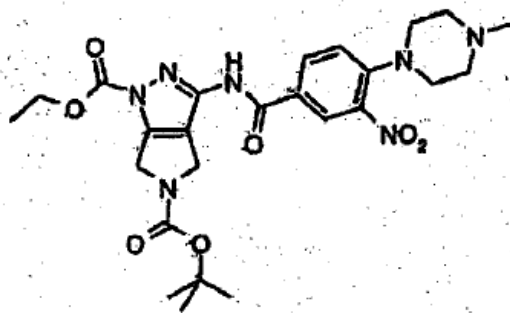
20 **Éster 1-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzoilamino]-4,6-dihidro-pirrol[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxílico**



25 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d_6): 11,67 (s, 1H) 8,38, 8,30, 8,14 (3m, 2H) 7,55 (m, 1H) 4,62(m, 2H) 4,53(m, 2H) 4,42 (q, $J=7,0$ Hz, 2H) 3,00 (m, 4H) 2,50 (m, 4H) 2,26 (bs, 3H) 1,48 (bs, 9H) 1,36, 1,35 (2t, $J=7,0$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

30 **Ejemplo 13**

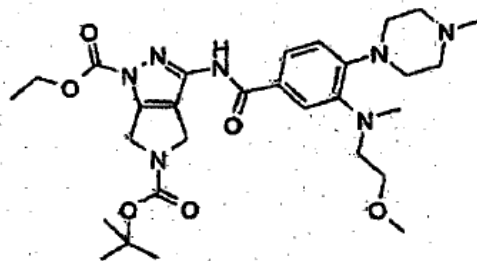
Éster 1-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-4,6-dihidro-pirrol[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxílico



5 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,58 (s, 1H) 8,56 (m, 1H) 8,21 (dd, $J_1=2,3$ Hz, $J_2=8,9$ Hz, 1H) 7,36 (dd, $J_1=2,6$ Hz, $J_1=8,9$ Hz, 1H) 4,61 (m, 2H) 4,53 (m, 2H) 4,41 (q, $J=7,2$ Hz, 2H) 3,17 (m, 4H) 2,47 (m, 4H) 2,26 (bs, 3H) 1,48 (s, 9H) 1,36 (t, $J=7,1$ Hz, 3H).

Ejemplo 14

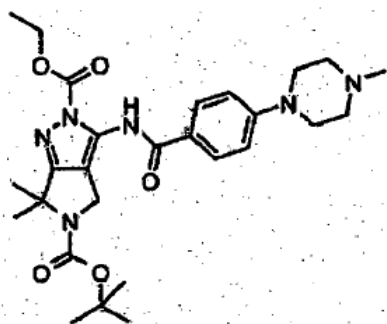
- 10 Éster 1-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 3-[3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino-4,6-dihidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxílico



15 ESI(+) MS: m/z 586 (MH^+)

Ejemplo 15

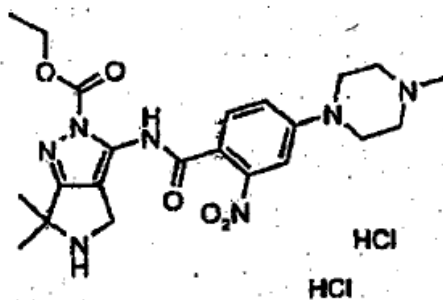
- 20 Éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-4H,6H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico



25 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,69 (s, 1H) 7,76 (m, 2H) 7,08 (m, 2H) 4,55 (m, 2H) 4,48 (q, $J=7,1$ Hz, 2H) 3,35 (m, 4H) 2,50 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H) 1,62, 1,63 (2s, 6H) 1,50, 1,47 (2s, 9H) 1,38 (t, $J=7,1$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 16

- 30 Clorhidrato del éster etílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



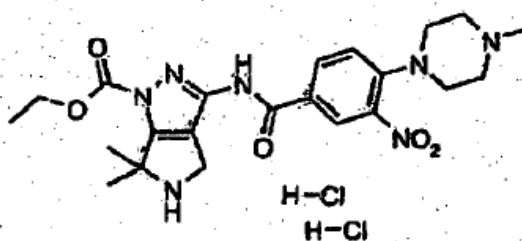
Una solución de HCl 4N en 1,4-dioxano (4 eq., 18,4 mL, 73,6 mmol) se añadió a una solución agitada de éster 2-etílico y éster 5-terc-butílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoilamino]-4H,6H-pirrol[3,4-c]pirazol-2,5-dicarboxílico (10,5 g, 18,4 mmol) en 1,4-dioxano (100 mL) a temperatura ambiente. Se continuó agitando durante 30 horas. Después de eliminar el disolvente, el material crudo se trató con éter dietílico (2×100 mL) y se evaporó a sequedad. El compuesto del título se obtuvo tras cristalización a partir de éter dietílico como sólido amarillo (10 g, cuantitativo)

1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,88 (s, 2H) 9,94 (bs, 1H) 7,75 (d, $J_1=8,78$ Hz, 1H) 7,61 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 7,40 (dd, $J_1=8,78$ Hz, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 4,50-4,43 (m, 4H) 4,14 (m, 2H), 3,51 (m, 2H), 3,45-3,05 (m, 4H) 2,84 (s, 3H) 1,69 (s, 6H) 1,37 (t, $J=7,07$ Hz, 3H).

Basándose en el ejemplo 16, se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 17-26:

Ejemplo 17

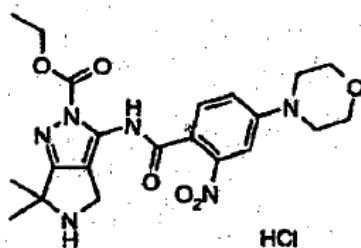
Diclorhidrato del éster etílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



ESI(+) MS: m/z 472 (MH^+)

Ejemplo 18

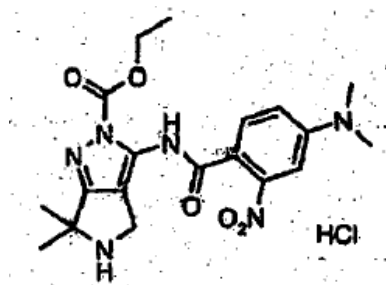
Clorhidrato del éster etílico del ácido 6,6-dimetil-3-(4-morfolin-4-il-2-nitro-benzoilamino)-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,56 (s, 1H) 7,68 (d, $J_1=8,66$ Hz, 1H) 7,46 (d, $J_2=2,44$ Hz, 1H) 7,29 (dd, $J_1=8,66$ Hz, $J_2=2,44$ Hz, 1H) 4,40 (q, $J=7,07$ Hz, 2H) 3,88 (s, 2H) 3,75 (m, 4H), 3,34 (m, 4H) 1,37-1,32 (m, 9H)

Ejemplo 19

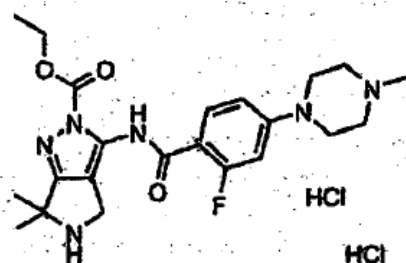
Clorhidrato del éster etílico del ácido 3-(4-dimetilamino-2-nitro-benzoilamino)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



5 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,78(s, 1H) 9,83 (bs, NH_2^+) 7,67 (d, $J_1=8,90$ Hz, 1H) 7,18 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H), 7,02 (dd, $J_1=8,90$ Hz, $J_2=2,56$ Hz, 1H), 4,50 (m, 2H) 4,47 (q, $J=7,08$ Hz, 2H) 3,08 (s, 6H) 1,68 (s, 6H) 1,38 (t, $J=7,08$ Hz, 3H).

Ejemplo 20

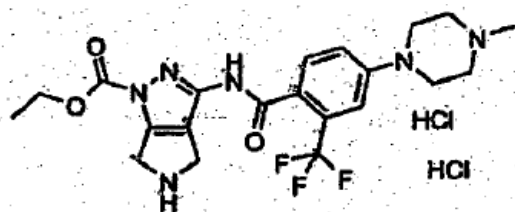
10 **Diclorhidrato del éster etílico del ácido 3-[2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico**



15 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,13, 11,10 (s, 1H) 7,91, 7,78 (m, 1H) 7,06-7,00, 6,94-6,89 (m, 2H) 4,64, 4,63 (bs, 2H) 4,49 (q, $J=7,08$ Hz, 2H) 4,17-4,12 (m, bs, 2H) 3,55-3,49 (m, bs, 2H) 3,41-3,28 (m, bs, 2H) 3,17-3,07 (m, bs, 2H) 2,87, 2,83 (bs, 3H) 1,68, 1,65 (s, 6H) 1,39 (t, $J=7,08$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 21

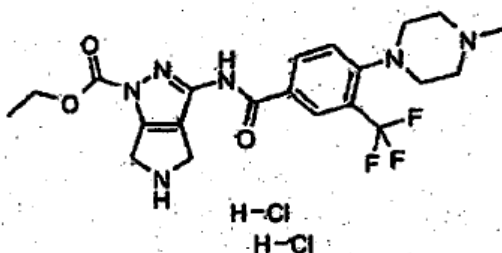
20 **Diclorhidrato del éster etílico del ácido 3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico**



25 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,64 (s, 1H) 10,23 (bs, NH_2^+) 7,61 (d, $J_1=8,66$ Hz) 7,35 (d, bs, $J_2=2,31$ Hz, 1H) 7,30 (dd, $J_1=8,66$ Hz, $J_2=2,31$ Hz, 1H) 4,56 (m, bs, 2H) 4,45-4,40 (m, 4H) 4,09 (m, bs, 2H) 3,52 (m, bs, 2H) 3,26-3,09 (m, bs, 4H) 2,85, 2,84 (s, 3H) 1,36 (t, $J=7,07$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 22

30 **Diclorhidrato del éster etílico del ácido 3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico**



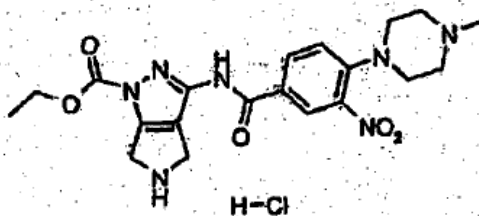
1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,90, 10,45, 10,27, 10,17 (4bs, 4H) 8,43 (m, 1H) 8,36 (m, 1H) 7,65 (m, 1H) 4,58 (m, 2H) 4,50 (m, 2H) 4,44 (q, J=7,1 Hz, 2H) 3,5-3,1 (m, 8H) 2,89 (bs, 3H) 1,37 (t, J=7,1 Hz, 3H).

5

Ejemplo 23

Clorhidrato del éster etílico del ácido 3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrólo[3,4-c]pirazol-1-carboxílico

10



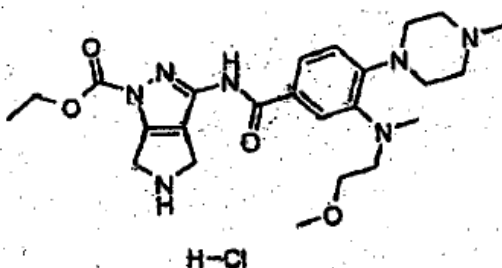
1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,83 (s, 1H) 10,58, 10,20, 10,05 (3bs, 2H) 8,65 (d, J=2,3 Hz, 1H) 8,28 (dd, J1=2,3 Hz, J2= 8,9 Hz, 1H) 7,49 (d, J=8,9 Hz, 1H) 4,57 (m, 2H) 4,49 (m, 2H) 4,44 (q, J=7,1 Hz, 2H) 3,6-3,45 (m, 4H) 3,35-3,1 (m, 4H) 2,87 (bs, 3H) 1,37 (t, J=7,1 Hz, 3H)

15

Ejemplo 24

Clorhidrato del éster etílico del ácido 3-[3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrólo[3,4-c]pirazol-1-carboxílico

20



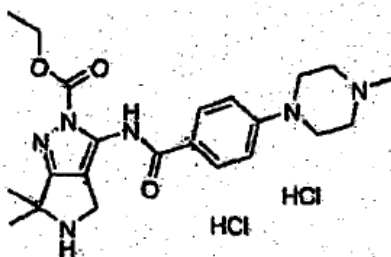
ESI(+)
MS: m/z 486 (MH⁺)

25

Ejemplo 25

Diclorhidrato del éster etílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrólo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico

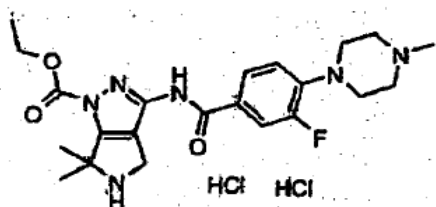
30



¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 11,39 (s, 1H) 10,68 (bs, 1H) 10,22 (bs, 2H) 8,00 (m, 2H) 7,10 (m, 2H) 4,51 (m, 2H) 4,47 (q, J=7,1 Hz, 2H) 4,12-4,03 (m, 2H) 3,49 (m, 2H) 3,28-3,06 (m, 4H) 2,84, 2,83 (2bs, 3H) 1,80 (bs, 6H) 1,37 (t, J=7,1 Hz, 3H)

5 Ejemplo 26

Ester etílico del ácido 3[3-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-1-carboxílico

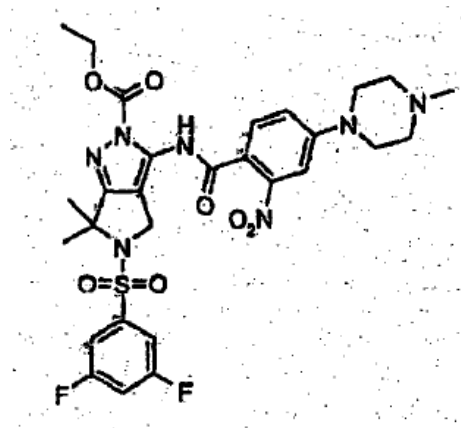


10

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 11,60 (s, 1H) 10,60 (bs, 1H) 10,19 (bs, 2H) 7,94-7,88 (m, 2H) 7,23 (m, 1H) 4,51 (bs, 2H) 4,47 (q, J=7,2 Hz, 2H) 3,76-3,44 (m, 4H) 3,23 (m, 4H) 2,85 (bs, 3H) 1,80 (s, 6H) 1,37 (t, J=7,2 Hz, 3H)

15 Ejemplo 27

Preparación del éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



20

Cloruro de 3,5-difluoro-bencenosulfonilo (1eq., 3,9 g, 18,4 mmol) se añadió por porciones a una disolución agitada de diclorhidrato del éster etílico del ácido 6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico (10g, 18,4 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (6 eq., 19,3 mL, 110,4 mmol) en diclorometano seco (100 mL) a temperatura ambiente. Se continuó agitando durante aproximadamente 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (100 mL) entonces se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico (150 mL), se secó con sulfato sódico, se evaporó a sequedad y se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice utilizando acetona como eluyente. El compuesto del título se obtuvo como un sólido amarillo (9 g, rendimiento 65 %).

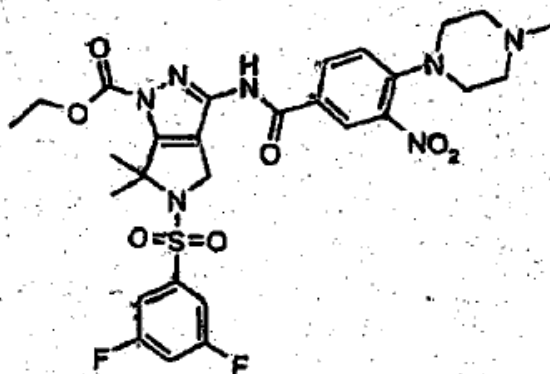
30

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,71 (s, 1H) 7,69-7,62 (m, 4H) 7,47 (d, J₂=2,44 Hz, 1H) 7,29 (dd, J₁=9,03 Hz, J₂=2,44 Hz, 1H) 4,58 (s, 2H) 4,43 (q, J=7,07 Hz, 2H) 3,41 (m, 4H) 2,50 (m, 4H) 2,26 (s, 3H) 1,67 (s, 6H) 1,35 (t, J=7,07, 3H).

35 Basándose en el ejemplo 27, se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 28-38:

Ejemplo 28

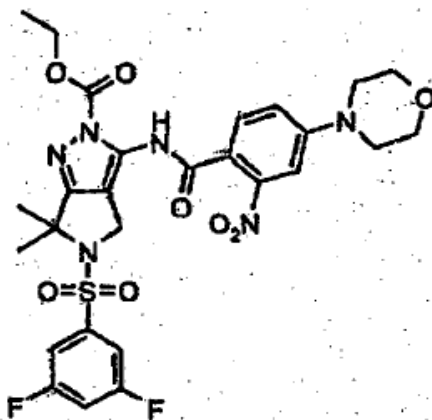
40 **Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-1-carboxílico**



1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,80 (s, 1H) 8,35 (d, J=2,2 Hz, 1H) 8,01 (dd, J1=2,2 Hz, J2=8,9 Hz, 1H)
 5 7,7-7,6(m, 3H) 7,45 (d, J=8,9 Hz, 1H) 4,69 (bs, 2H) 4,47 (q, J=7,1 Hz, 2H) 3,19 (m, 4H) 2,47 (m, 4H) 2,26 (s, 3H)
 1,68 (s, 6H) 1,37 (t, J=7,1 Hz, 3H)

Ejemplo 29

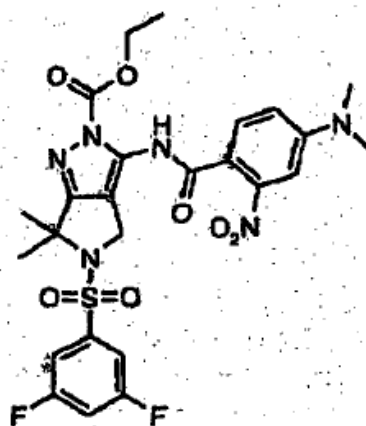
10 **Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-3-(4-morfolin-4-il-2-nitro-benzoilamino)-5,6-dihidro-4H-pirrolol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico**



15 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,71 (s, 1H) 7,66 (d, J=8,78 Hz, 1H) 7,67-7,59 (m, 3H) 7,46 (d, J2=2,56 Hz, 1H) 7,28 (dd, J1=8,78 Hz, J2=2,56 Hz, 1H) 4,56 (s, 2H) 4,40 (q, J=7,07 Hz, 2H) 3,73 (m, 4H) 3,35 (m, 4H) 1,65 (s, 6H) 1,32 (t, J=7,07 Hz, 3H).

Ejemplo 30

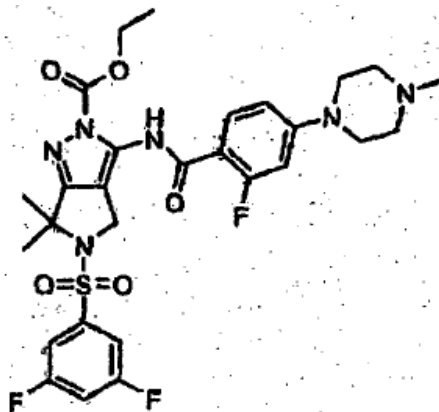
20 **Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3-(4-dimetilamino-2-nitro-benzoilamino)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico**



¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,64 (s, 1H) 7,66-7,59 (m, 4H) 7,16 (d, J₂=2,56 Hz, 1H) 6,98 (dd, J₁=8,90 Hz, J₂=2,56 Hz, 1H) 4,56 (s, 2H) 4,41 (q, J=7,08 Hz, 2H) 3,04 (s, 6H) 1,64 (s, 6H) 1,33 (t, J=7,08 Hz, 3H).

5 Ejemplo 31

Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3-[2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



10

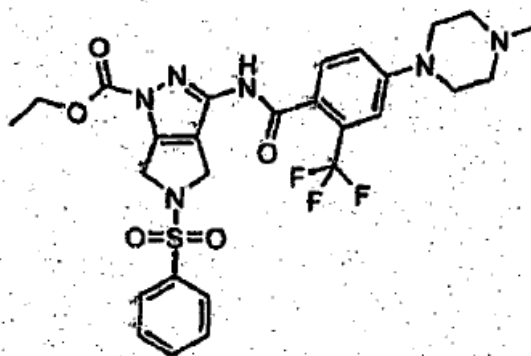
¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 11,05, 11,02 (s, 1H) 7,87 (m, 1H) 7,69-7,62 (m, 3H) 6,96-6,86 (m, 2H) 4,76 (s, 2H) 4,47 (q, J=7,08 Hz, 2H) 3,44-3,30 (m, 4H) 2,57-2,49 (m, 4H) 2,30 (bs, 3H) 1,67 (s, 6H) 1,37 (t, J=7,08 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

15

Ejemplo 32

Éster etílico del ácido 5-bencenosulfonil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico

20



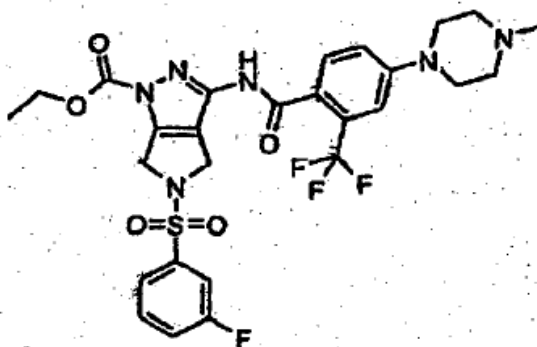
¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 11,41 (s, 1H) 7,88-7,94 (m, 2H) 7,71-7,78 (m, 1H) 7,64-7,70 (m, 2H) 7,50 (d, J=8,66 Hz, 1H) 7,15-7,25 (m, 2H) 4,65-4,72 (m, 2H) 4,47-4,52 (m, 2H) 4,38 (q, J=7,07 Hz, 2H) 3,24-3,43 (m, 4H) 2,42-2,55 (m, 4H) 2,27 (s, 3H) 1,33 (t, J=7,13 Hz, 3H).

25

Ejemplo 33

Éster etílico del ácido 5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico

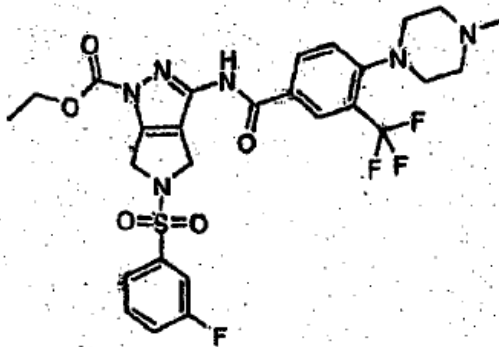
30



5 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,42 (s, 1H) 7,5-7,8 (m, 4H) 7,50 (d, J=8,54 Hz, 1H) 7,16-7,24 (m, 2H) 4,70-4,74 (m, 2H) 4,49-4,53 (m, 2H) 4,39 (q, J=7,03 Hz, 2H) 3,26-3,40 (m, 4H) 2,47-2,56 (m, 4H) 2,27 (s, 3H) 1,34 (t, J=7,07 Hz, 3H).

Ejemplo 34

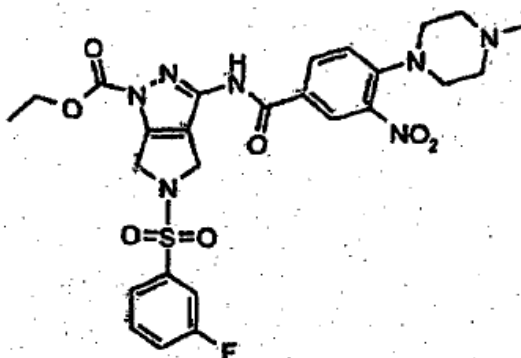
10 Éster etílico del ácido 5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico



15 ESI(+) MS: m/z 625 (MH⁺)

Ejemplo 35

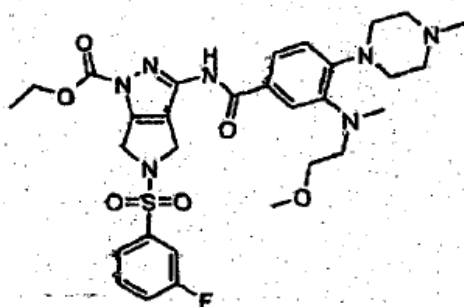
20 Éster etílico del ácido 5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico



25 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 11,60 (bs, 1H) 8,54 (d, J=2,2 Hz, 1H) 8,18 (dd, J1=2,2 Hz, J2=8,9 Hz, 1H) 7,81-7,68 (m, 3H) 7,60 (m, 1H) 7,34 (d, J=8,9 Hz, 1H) 4,72 (m, 2H) 4,58 (m, 2H) 4,40 (q, J=7,0 Hz, 2H) 3,15 (m, 4H) 2,44 (m, 4H) 2,23 (s, 3H) 1,35 (t, J=7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 36

Éster etílico del ácido 5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-3-[3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico



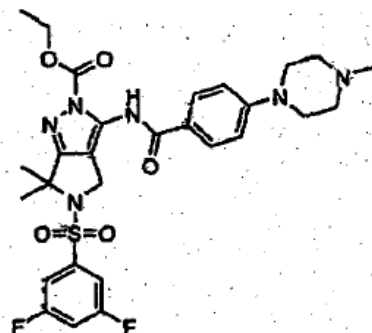
ESI(+) MS: m/z 625 (MH⁺)

5

Ejemplo 37

Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirroló[3,4-c]pirazol-2-carboxílico

10

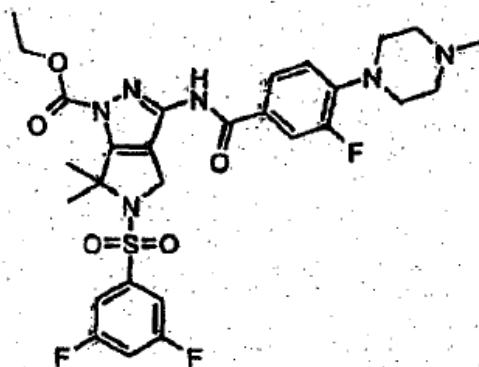


¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,69 (s, 1H) 7,76 (m, 2H) 7,67-7,63 (m, 3H) 7,10 (m, 2H) 4,72 (s, 2H) 4,47 (q, J=7,1 Hz, 2H) 3,35 (m, 4H) 2,6-2,2 (m, 7H) 1,67 (bs, 6H) 1,37 (t, J=7,1 Hz, 3H).

15

Ejemplo 38

Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3[3-fluoro-4-(metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirroló[3,4-c]pirazol-1-carboxílico



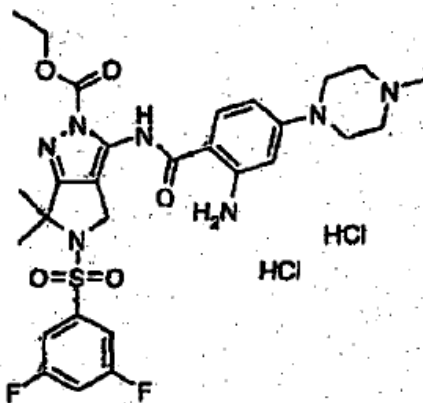
20

ESI(+) MS: m/z 621 (MH⁺)

Ejemplo 39

25

Preparación del diclorhidrato del éster etílico del ácido 3-[2-amino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirroló[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



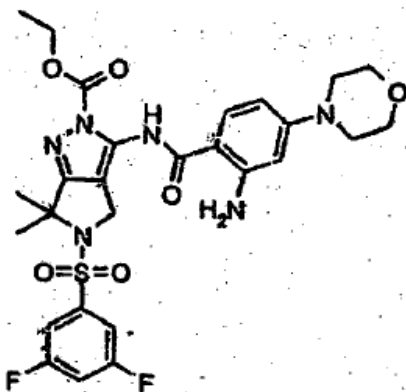
Una suspensión de éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico (1,50 g, 2,3 mmol), ciclohexeno (15 eq., 20 mL), HCl 2N (13 eq., 15 mL), en tetrahidrofurano-agua-etanol (2:1,5:1,5 50 mL) se trató con Pd-C 10% (0,55 g). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 3 horas, y se filtró con decalite. El bloque de filtrado se lavó concienzudamente con tetrahidrofurano y etanol. El filtrado se evaporó entonces a sequedad proporcionando el compuesto del título como polvo de color beige (1,4 g, rendimiento 93%) que se utilizó en las siguientes etapas sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,60, 10,40 (bs, 1H) 7,64 (m, 3H) 7,34 (d, J₁=9,02 Hz, 1H) 6,68 (bs, NH₃⁺) 6,39 (dd, J₁=9,02 Hz, J₂=2,31 Hz, 1H) 6,26 (d, J₂=2,31 Hz, 1H) 4,71 (s, 2H) 4,43 (q, J=7,07 Hz, 2H) 3,88 (m, 2H) 3,48 (m, 2H) 3,11 (m, 4H) 2,81, 2,80 (s, 3H) 1,63 (s, 6H) 1,34 (t, J=7,07 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Basándose en el ejemplo 39, se obtuvieron también los siguientes compuestos en los ejemplos 40-41:

Ejemplo 40

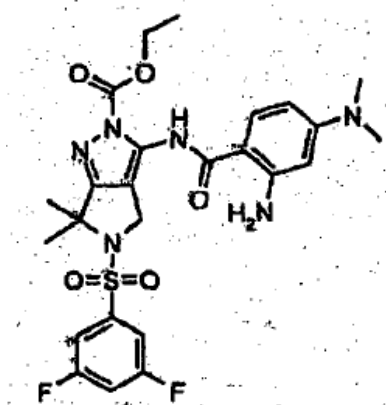
Éster etílico del ácido 3-(2-amino-4-morfolin-4-il-benzoilamino)-5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 10,54 (bs, 1H) 7,65-7,60 (m, 3H) 7,30 (d, J₁=9,03 Hz, 1H) 6,34 (dd, J₁=9,03 Hz, J₂=2,44 Hz, 1H) 6,20 (d, J₂=2,44 Hz, 1H) 4,71 (s, 2H) 4,43 (q, J=7,08 Hz, 2H) 3,70 (m, 4H) 1,63 (s, 6H) 1,34 (t, J=7,08 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 41

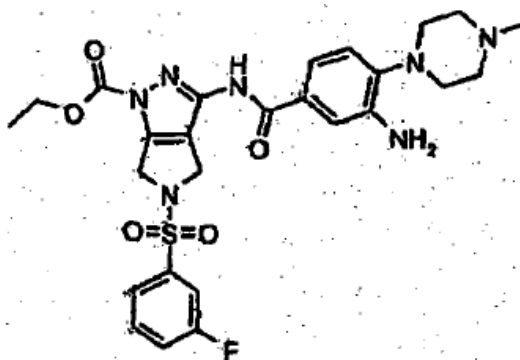
Éster etílico del ácido 3-(2-amino-4-dimetilamino-benzoilamino)-5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 10,66 (bs, 1H) 7,65 (m, 2H) 7,29 (d, $J_1=9,03$ Hz, 1H) 7,18 (m, 1H) 6,18 (dd, $J_1=9,03$ Hz, $J_2=2,57$ Hz, 1H) 6,01 (d, $J_2=2,57$ Hz, 1H) 4,46 (q, $J=7,08$ Hz, 2H) 2,96 (s, 6H) 1,65 (s, 6H) 1,37 (t, $J=7,08$ Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

Ejemplo 42

10 Éster etílico del ácido 3-[3-amino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5-(3-fluoro-benzenosulfonyl)-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico

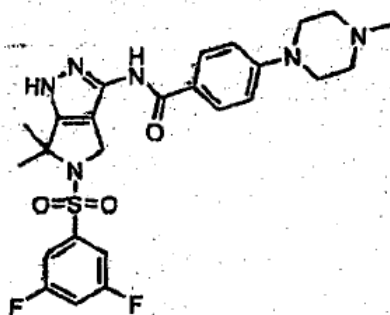


15 A una solución de 360 mg (1,91 mmol, 5 eq.) de SnCl_2 en 3 mL de etanol a 60°C se añadieron 230 mg (0,39 mmol) de una disolución de éster etílico del ácido 5-(3-fluoro-benzenosulfonyl)-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico en 2 mL de etanol y 2 mL de ácido clorhídrico concentrado. Después de 2 horas, se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se trató con una solución saturada de bicarbonato sódico, se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro. Se evaporó el disolvente y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna flash, utilizando diclorometano-metanol 9:1 como eluyente, rindiendo 120 mg (54 % de rendimiento) de éster etílico del ácido 3-[3-amino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5-(3-fluoro-benzenosulfonyl)-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-1-carboxílico como un sólido blanco.

25 ESI(+) MS: m/z 572 (MH^+)

Ejemplo 43

30 Preparación de N-[5-(3,5-difluoro-benzenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida



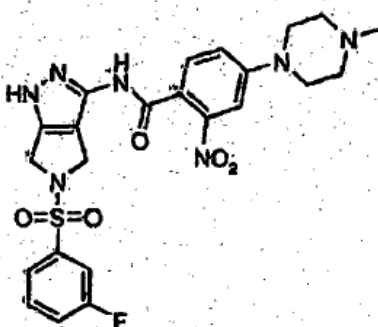
5 Una mezcla de éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-3-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrol[3,4-c]pirazol-2-carboxílico (1,6 g, 3 mmol) en MeOH (60 mL) y trietilamina (5 mL) se calentó a 60°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad y el residuo crudo se cristalizó de acetato de etilo, se filtró, se lavó con eter dietílico y se secó bajo vacío proporcionando el compuesto del título como un sólido blanco (1,2 g).

10 ¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,44, 12,11 (dos bs, 1H) 10,62 (bs, 1H) 7,90 (m, 2H) 7,69-7,56 (m, 3H) 6,99 (m, 2H) 4,65-4,50 (m, 2H) 3,31 (m, 4H) 2,49 (m, 4H) 2,26 (bs, 3H) 1,67 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

Basándose en el ejemplo 43 y partiendo de los precursores adecuados se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 44-56:

15 Ejemplo 44

N-[5-(3-Fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzamida

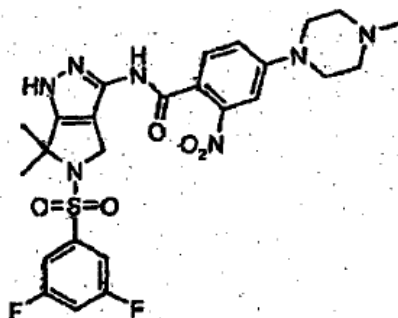


20

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,39 (bs, 1H) 11,02 (bs, 1H) 7,73 (m, 3H) 7,59 (m, 2H) 7,41 (m, 1H) 7,22 (m, 1H) 4,52-4,40 (m, 4H) 3,33 (m, 4H) 2,45 (m, 4H) 2,24 (s, 3H); mezcla de tautómeros.

25 Ejemplo 45

N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzamida



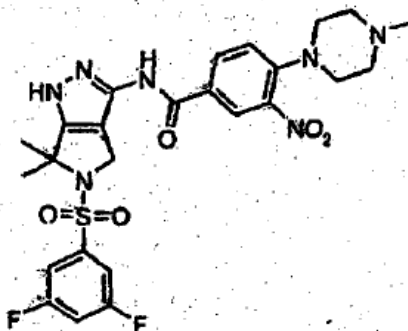
30

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,51, 12,39 (bs, 1H) 11,15, 11,07 (bs, 1H) 7,68-7,57 (m, 4H) 7,42 (m, bs,

1H) 7,23 (m, bs, 1H) 4,60-4,41 (bs, 2H) 3,42-3,27 (m, 4H) 2,45 (m, 4H) 2,24 (s, 3H) 1,68 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

Ejemplo 46

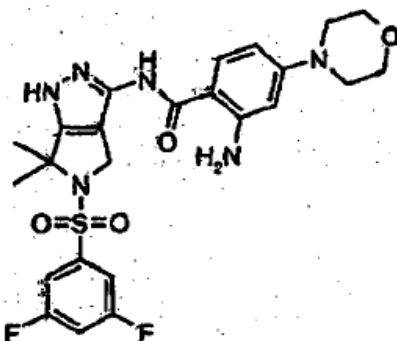
5 **N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirroló[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzamida**



10 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,55, 12,28 (2bs, 1H) 11,06, 11,00 (2bs, 1H) 8,52-8,40 (m, 1H) 8,20-8,05 (m, 1H) 7,70-7,58 (m, 3H) 7,44-7,31 (m, 1H) 4,65-4,50 (m, 2H) 3,15 (m, 4H) 2,47 (m, 4H) 2,26 (bs, 3H) 1,68 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

15 Ejemplo 47

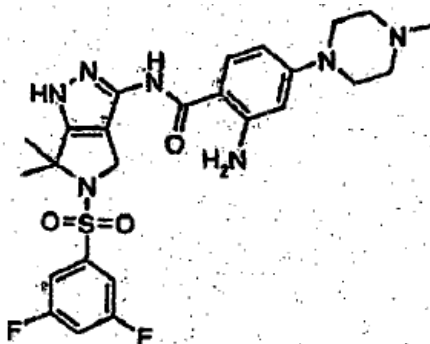
2-Amino-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirroló[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida



20 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,35, 11,96 (bs, 1H) 10,24 (s, 1H) 7,65-7,55 (m, 4H) 6,54 (bs, 2H) 6,22 (m, bs, 1H) 6,16 (d, $J=1,83$ Hz, 1H) 4,53 (bs, 2H) 3,70 (m, 4H) 3,13 (m, 4H) 1,62 (s, 6H); mezcla de tautómeros.

25 Ejemplo 48

2-Amino-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirroló[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida

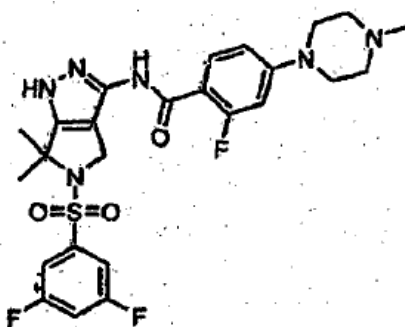


30

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,37, 11,99 (bs, 1H) 10,25 (bs, 1H) 7,67-7,59 (m, 4H) 6,55 (bs, 2H) 6,30-6,15 (m, bs, 2H) 4,56 (bs, 2H) 3,20 (m, bs, 4H) 2,43 (m, 4H) 2,23 (s, 3H) 1,65 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

5 Ejemplo 49

N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida

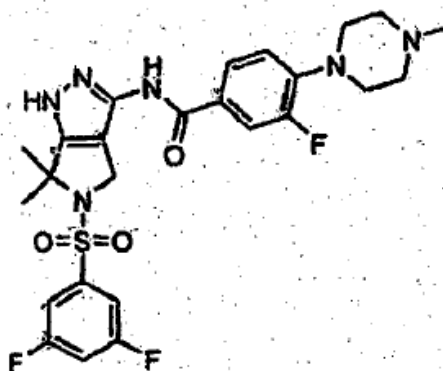


10

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,47, 12,18 (bs, 1H) 10,27, 10,19 (bs, 1H) 7,68-7,58 (m, 4H) 6,90-6,75 (m, bs, 2H) 4,60, 4,55 (bs, 2H) 3,34 (m, 4H) 2,47 (m, bs, 4H) 2,26 (bs, 3H) 1,67, 1,64 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

15 Ejemplo 50

N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida

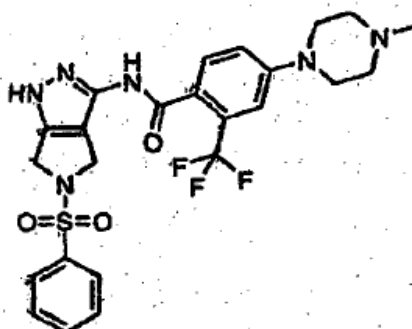


20

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,51, 12,24 (2bs, 1H) 10,84 (s, 1H) 7,80 (m, 2H) 7,69-7,58 (m, 3H) 7,11 (m, 1H) 4,63-4,50 (m, 2H) 3,17 (m, 4H) 2,54 (m, 4H) 2,29 (bs, 3H) 1,67 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

25 Ejemplo 51

N-(5-bencenosulfonil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzamida

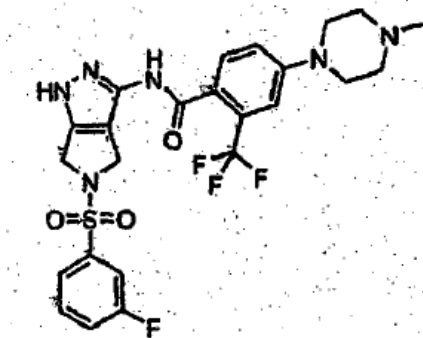


30

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,28 (s, 1H) 10,80 (s, 1H) 7,87-7,90 (m, 2H) 7,69-7,77 (m, 1H) 7,61-7,68 (m, 2H) 7,40-7,53 (m, 1H) 7,16-7,32 (m, 2H) 4,32-4,56 (m, 4H) 3,19-3,43 (m, 4H) 2,42-2,60 (m, 4H) 2,27 (s, 3H).

5 Ejemplo 52

N-[5-(3-Fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzamida

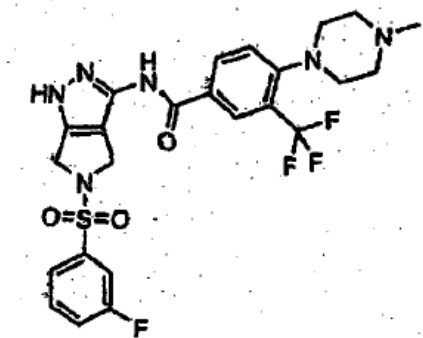


10

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,37 (bs, 1H) 11,03, 10,84 (bs, 1H) 7,76-7,13 (m, 7H) 4,54, 4,43 (m, bs, 4H) 3,41-3,26 (m, 4H) 2,65 (m, bs, 4H) 2,39 (bs, 3H); mezcla de tautómeros.

15 Ejemplo 53

N-[5-(3-Fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzamida

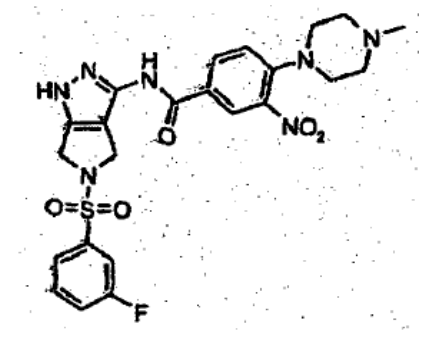


20

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,47, 12,30 (2bs, 1H) 11,10 (bs, 1H) 8,84-8,17 (m, 2H) 7,81-7,67 (m, 3H) 7,63-7,52 (m, 2H) 4,62-4,37 (m, 4H) 2,99 (m, 4H) 2,51 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H); mezcla de tautómeros.

25 Ejemplo 54

N-[5-(3-Fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzamida



30

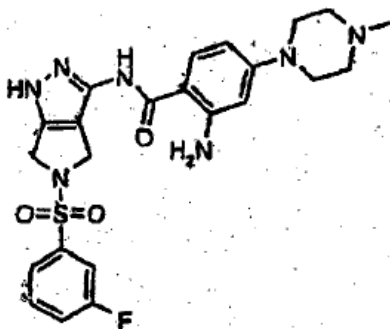
¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,45, 12,26 (2bs, 1H) 11,00 (bs, 1H) 8,52-8,37 (m, 1H) 8,20-8,00 (m, 1H)

7,80-7,67 (m, 3H) 7,59 (m, 1H) 7,45-7,28 (m, 1H) 4,61-4,38 (m, 4H) 3,15 (m, 4H) 2,46 (m, 4H) 2,25 (bs, 3H);mezcla de tautómeros.

Ejemplo 55

5

2-Amino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida



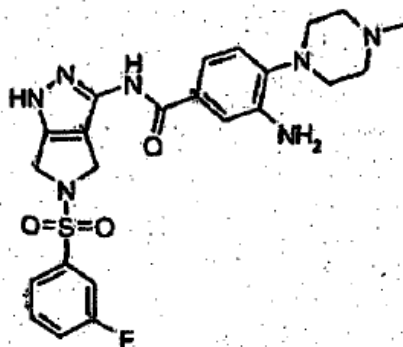
10

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,27, 11,95 (bs, 1H) 10,21 (bs, 1H) 7,77-7,51 (m, 5H) 6,66, 6,55 (bs, 2H) 6,26-6,17 (m, bs, 2H) 4,55-4,41 (m, bs, 4H) 3,21 (m, bs, 4H) 2,47 (m, bs, 4H) 2,26 (s, 3H);mezcla de tautómeros.

Ejemplo 56

15

3-Amino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida

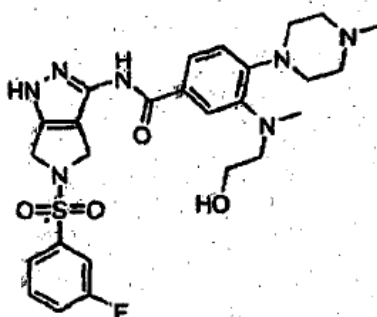


20

¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,35, 12,12 (2bs, 1H) 10,65, 10,54 (2bs, 1H) 7,78-7,67 (m, 3H) 7,59 (m, 1H) 7,31-7,12 (m, 2H) 7,0-6,88 (m, 1H) 4,84 (m, 2H) 4,6-4,3 (m, 4H) 2,88 (m, 4H) 2,53 (m, 4H) 2,27 (bs, 3H);mezcla de tautómeros.

Ejemplo 57

Preparación de N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-[(2-hidroxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida



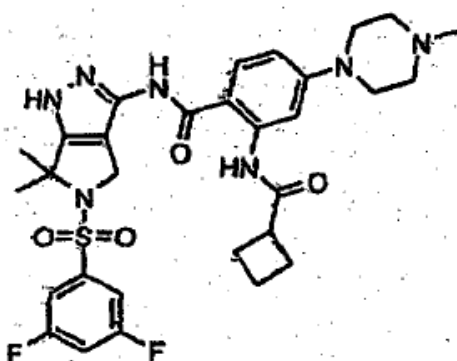
30

Una solución de éster etílico del ácido 5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-3-[3-[(2-metoxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-1-carboxílico (120 mg, 0,186 mmol) en 5 mL de BBr₃ 1M en diclorometano se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y las fases orgánicas combinadas se evaporaron a sequedad. El crudo resultante (110 mg) se disolvió en 4 mL de MeOH y 0,5 mL de trietilamina y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se eliminó el disolvente y el producto final se purificó mediante cromatografía de columna flash, utilizando diclorometano-metanol-amonio acuoso 9:1:0,5 como eluyente, proporcionando 70 mg de sólido amarillo.

1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,39, 12,14 (2bs, 1H) 10,71 (bs, 1H) 7,80-7,67 (m, 3H) 7,63-7,48 (m, 3H) 6,93 (m, 1H) 4,6-4,4 (m, 5H) 3,50 (m, 2H) 3,28 (m, 2H) 3,18 (m, 4H) 2,83 (s, 3H) 2,59 (m, 4H) 2,30 (bs, 3H);mezcla de tautómeros.

Ejemplo 58

15 **Preparación de 2-(ciclobutanocarbonil-amino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida**



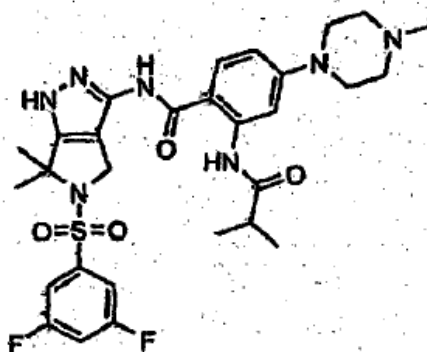
20 A una solución de éster etílico del ácido 3-[2-amino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico (105 mg, 0,17 mmol) en diclorometano (5 mL) y N,N-diisopropiletilamina (1 mL) se añadió cloruro de ciclobutancarboxilo (28,5 microL, 0,25 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se diluyó con diclorometano (30 mL), se lavó con agua (30 mL), se secó con sulfato sódico y se evaporó a sequedad. El aceite crudo se trató con MeOH (5 mL) y trietilamina (3 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se eliminó el disolvente bajo vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, utilizando un mezcla de diclorometano-MeOH-NH₄OH 30% 100:10:1 como eluyente, proporcionando el compuesto del título como sólido blanco (21 mg).

30 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 12,53, 12,16 (bs, 1H) 11,62, 11,37 (bs, 1H) 10,79 (s, 1H) 8,17 (d, J₂=2,44 Hz, 1H) 7,88, 7,55 (m, bs, 1H) 7,67 (m, 1H) 7,58 (m, 2H) 6,75, 6,67 (m, bs, 1H) 4,57, 4,52 (bs, 2H) 3,36-3,21 (m, 5H) 2,48 (m, 4H) 2,26 (s, 3H) 2,24-2,15 (m, 2H) 2,03-1,96 (m, 2H) 1,87-1,78 (m, 2H) 1,70, 1,66 (bs, 6H);mezcla de tautómeros.

35 Basándose en el ejemplo 58 y utilizando el cloruro de ácido adecuado, se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 59-61:

Ejemplo 59

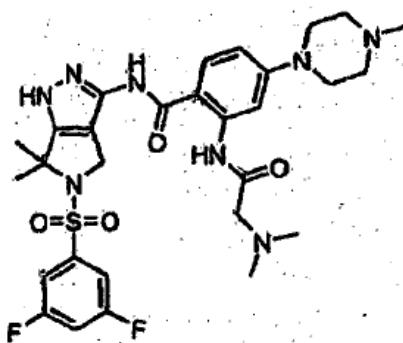
40 **N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-isobutirilamino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida**



5 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,53, 12,19 (bs, 1H) 11,69, 11,47 (bs, 1H) 10,79 (s, 1H) 8,15 (d, $J_2=2,44$ Hz, 1H) 7,87, 7,76 (m, bs, 1H) 7,67 (m, 1H) 7,58 (m, 2H) 6,76, 6,68 (m, bs, 1H) 4,57, 4,52 (bs, 2H) 3,42, 3,25 (m, 5H) 2,47 (m, 4H) 2,25 (s, 3H) 1,70, 1,66 (bs, 6H) 1,18 (d, $J=6,95$ Hz, 6H); mezcla de tautómeros.

Ejemplo 60

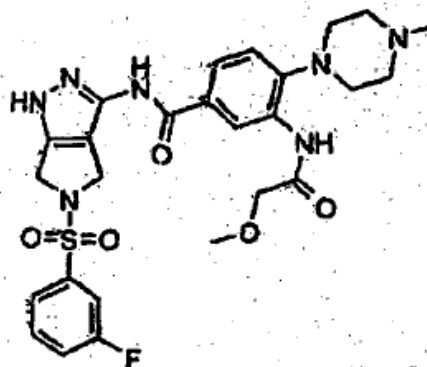
10 **N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida**



15 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,21, 12,08 (bs, 1H) 10,76 (s, 1H) 8,26 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 7,92, 7,85 (m, bs, 1H) 7,68 (m, 1H) 7,55 (m, 2H) 6,76, 6,68 (m, bs, 1H) 4,64, 4,57 (bs, 2H) 3,29 (m, 4H) 3,06 (s, 2H) 2,45 (m, 4H) 2,30 (s, 6H) 2,23 (s, 3H) 1,70 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

Ejemplo 61

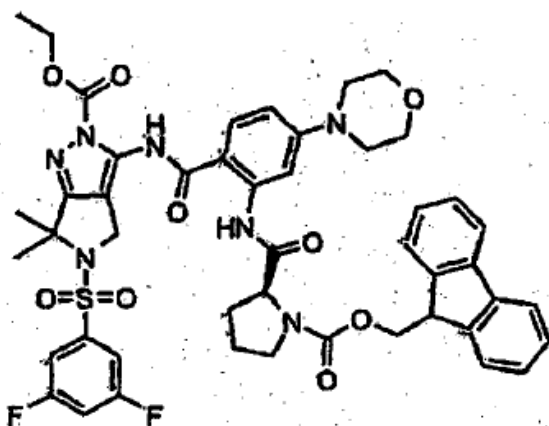
20 **N-[5-(3-Fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-(2-metoxi-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida**



25 1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,41, 12,19, 10,85 9,27, 8,77 (5 bs, 3H) 7,8-7,1 (m, 7H) 4,6-4,4 (m, 4H) 4,08 (s, 2H) 3,50 (s, 3H) 3,7-2,3 (m, 8H) 2,94 (bs, 3H); mezcla de tautómeros.

Ejemplo 62

Preparación del éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3-(2-[(S)-1-(9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonil)-pirrolidin-2-carbonil]-amino)-4-morfolin-4-il-benzoilamino)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



5

A una solución de éster etílico del ácido 3-(2-amino-4-morfolin-4-il-benzoilamino)-5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico (0,3 g, 0,5 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (260 microL) en diclorometano (15 mL), se añadió (S)-2-clorocarbonil-1-(9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonil)-pirrolidina (0,266 g, 0,75 mmol, 1,5 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de eliminar el disolvente bajo vacío, el residuo crudo se purificó mediante cromatografía de columna flash en gel de sílice, utilizando una mezcla de hexano-acetato de etilo 1:1 como eluyente, dando el compuesto del título como polvo amarillo (0,33 g).

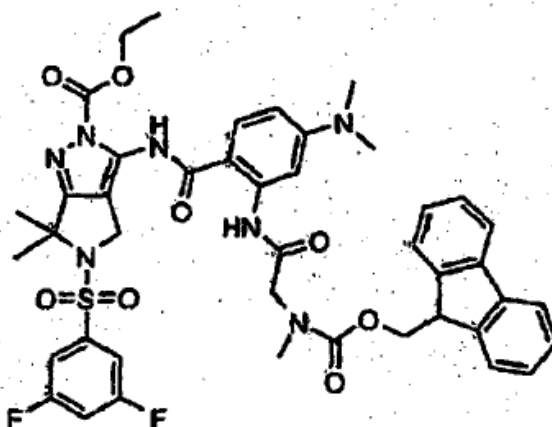
10

15 ¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 11,95, 11,75 (2bs, 1H) 10,76, 10,66 (2bs, 1H) 8,26, 8,15 (2bs, 1H) 7,86 (m, 2H) 7,72-7,53 (m, 5H) 7,89 (m, 2H) 7,25 (m, 2H) 6,99-6,88 (m, 2H) 4,72 (m, 2H) 4,46 (q, 2H) 4,42-4,1 (m, 2H) 3,78 (m, 4H) 3,70-3,57 (m, 2H) 3,33 (m, 4H) 2,39-2,29 (m, 2H) 1,67, 1,64 (s, 3H) 1,57, 1,53 (s, 3H) 1,37 (t, J=7,19 Hz, 3H); mezcla de rotámeros.

20 Basándose en el ejemplo 62 y utilizando el cloruro de ácido adecuado, se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 63-64:

Ejemplo 63

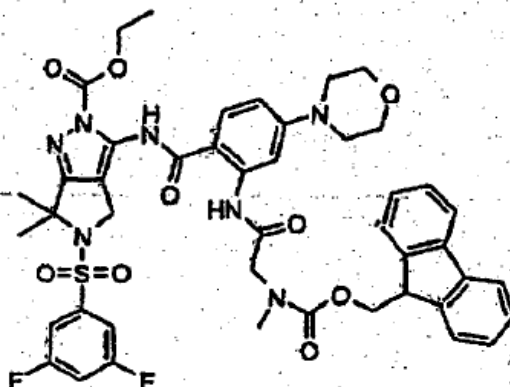
25 **Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3-(4-dimetilamino-2-(2-[(9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonil)-metil-amino]-acetilamino)-benzoilamino)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico**



30 ¹H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d₆): 11,92, 11,60 (s, 1H) 10,67, 10,64 (s, 1H) 8,1-7,8 (m, 3H) 7,75-7,30 (m, 6H) 7,22 (m, 2H) 6,95 (m, 2H) 6,62 (m, 1H) 4,73, 4,71 (s, 2H) 4,44 8q, J=7,20 Hz, 2H) 4,28 (d, J=6,95 Hz, 2H) 4,28 (d, J=6,95 Hz, 2H) 4,16 (t, J=6,95 Hz, 1H) 4,05 (s, 2H) 3,12, 3,08 (s, 3H) 3,05, 3,02 (s, 6H) 1,56, 1,55 (bs, 6H) 1,35 (t, J=7,20 Hz, 3H);mezcla de rotámeros.

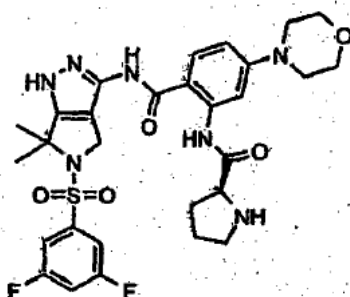
35 **Ejemplo 64**
Éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3-(2-(2-[(9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonil)-metil-amino]-

acetilamino)-4-morfolin-4-il-benzoilamino)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico



5 Ejemplo 65

Preparación de la {2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoi]-5-morfolin-4-il-fenil}-amida del ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico



10

A una solución de éster etílico del ácido 5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-3-(2-[[S]-1-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonil)-pirrolidin-2-carbonil]-amino)-4-morfolin-4-il-benzoilamino)-6,6-dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolo[3,4-c]pirazol-2-carboxílico (0,3 g, 0,32 mmol) en MeOH (10 mL) y diclorometano (3 mL), se añadió piperidina (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de evaporar a sequedad, el residuo se lavó con éter de petróleo y se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice, utilizando una mezcla de diclorometano-MeOH 95:5 como eluyente, proporcionando el compuesto del título como polvo amarillo pálido (0,15 g)

15

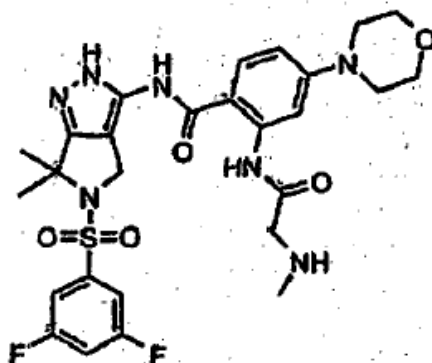
1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,49, 12,19 (bs, 2H) 10,74 (bs, 1H) 8,27 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 7,76 (m, bs, 1H) 7,67 (m, 1H) 7,58 (m, 2H) 6,70 (m, bs, 1H) 4,66-4,53 (m, bs, 2H) 3,74 (m, 5H) 3,23 (m, 4H) 3,01-2,84 (m, 2H) 2,11-1,61 (m, 10 H);mezcla de tautómeros.

20

Basándose en el ejemplo 65 y partiendo del precursor adecuado, se obtuvo el siguiente compuesto en el ejemplo 66:

25 Ejemplo 66

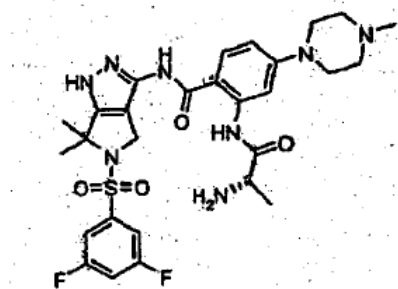
N-[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-2,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-metilamino-acetilamino)-4-morfolin-4-il-benzamida



1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,50, 12,17 (bs, 1H) 10,54 (bs, 1H) 8,28 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 7,82-7,72 (m, bs, 1H) 7,66 (m, 1H) 7,58 (m, 2H) 6,79-6,67 (m, bs, 1H) 4,62, 4,56 (s, 2H) 4,75 (m, 4H) 3,23 (m, 6H) 2,35 (s, 3H) 1,69 (s, 6H); mezcla de tautómeros.

Ejemplo 67

Preparación de 2-((S)-2-amino-propionilamino)-N[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida



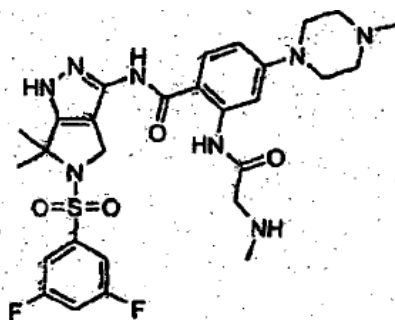
A una solución de 2-amino-N[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida (0,188 g, 0,34 mmol), N,N-diisopropiletilamina (0,59 mL, 3,4 mmol) y diclorometano (10 mL), se añadió cloruro de (S)-2-[(9H-fluoren-9-ilmtoxocarboxil)amino]-propionil (0,448 g, 1,36 mmol, 4 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después de evaporar a sequedad, el residuo se trató con diclorometano (10 mL), trietilamina (15 mL) y MeOH (5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. Se eliminó el disolvente bajo vacío y el residuo se purificó mediante HPLC/MS preparativo proporcionando el compuesto del título como sólido blanco (0,105 g).

1H-RMN (400 MHz), δ (ppm, DMSO- d_6): 12,47 (bs, 1H) 12,25 (bs, 1H) 10,77 (bs, 1H) 8,26 (d, $J_2=1,83$ Hz, 1H) 7,73 (m, bs, 1H) 7,65 (m, 1H) 7,59 (m, 2H) 6,67 (bs, 1H) 4,58 (bs, 2H) 3,41 (m, 1H) 3,18 (d, $J=5,25$ Hz, 2H) 2,45 (m, 4H) 2,23 (s, 3H) 1,67 (s, 6H) 1,26 (d, $J=7,07$ Hz, 3H); mezcla de tautómeros.

Basándose en el ejemplo 67, se obtuvieron los siguientes compuestos en los ejemplos 68-69:

Ejemplo 68

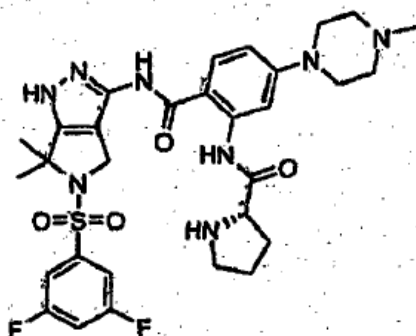
N[5-(3,5-Difluoro-bencenosulfonyl)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-metilamino-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida



5 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d_6): 12,50, 12,22 (bs, 1H) 10,74 (bs, 1H) 8,28 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 7,78 (m, bs, 1H) 7,66 (m, 1H) 7,58 (m, 2H) 7,28 (bs, 1H) 6,68 (bs, 2H) 4,61 (m, 2H) 3,27 (m, 4H) 3,23 (s, 2H) 2,45 (m, 4H) 2,35 (s, 3H) 2,24 (s, 3H) 1,68 (bs, 6H); mezcla de tautómeros.

Ejemplo 69

10 [2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amida del ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico



15 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz), δ (ppm, DMSO-d_6): 12,48 (bs, 1H) 12,18 (bs, 1H) 10,73 (bs, 1H) 8,26 (d, $J_2=2,56$ Hz, 1H) 7,75 (m, 1H) 7,67 (m, 1H) 7,57 (m, 2H) 6,68 (m, 1H) 4,63-4,54 (m, 2H) 3,72 (m, 1H) 3,26 (m, 4H) 3,01-2,84 (m, 2H) 2,45 (m, 4H) 2,24 (s, 3H) 2,07 (m, 1H) 1,81-1,61 (m, 9H); mezcla de tautómeros.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Nerviano Medical Sciences Srl.

5 <120>Biciclopirazoles activos como inhibidores de cinasa

<130> NMS038

<140> PCT/EP2007/052024

10 <141> 2007-03-02

<150> US 60/778,898

<151> 2006-03-03

15 <160> 4

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

20 <211> 33

<212>ADN

<213> Artificial

<220>

25 <223>Cebador directo

<400> 1

ctcgatcca gaaagagaaa taacagcagg ctg 33

30 <210> 2

<211> 36

<212>ADN

<213> Artificial

35 <220>

<223>Cebador inverso

<400> 2

ctcgatcct cagcaggctg aagactgggg cagcgg 36

40

<210> 3

<211> 639

<212> PRT

<213> Artificial

45

<220>

<223>Proteína de fusión

<400> 3

Met Gly Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln
1 5 10 15

Pro Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His
20 25 30

Leu Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu
35 40 45

Leu Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val
50 55 60

50 Lys Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His

ES 2 442 491 T3

65 70 75 80
 Asn Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu
 85 90 95
 Glu Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr
 100 105 110
 Ser Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro
 115 120 125
 Glu Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu
 130 135 140
 Asn Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu
 145 150 155 160
 Asp Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys
 165 170 175
 Leu Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys
 180 185 190
 Tyr Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln
 195 200 205
 Ala Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val
 210 215 220
 Leu Phe Gln Gly Pro Gly Ser Arg Lys Arg Asn Asn Ser Arg Leu Gly
 225 230 235
 Asn Gly Val Leu Tyr Ala Ser Val Asn Pro Glu Tyr Phe Ser Ala Ala
 245 250 255
 Asp Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp Glu Val Ala Arg Glu Lys Ile Thr
 260 265 270
 Met Ser Arg Glu Leu Gly Gln Gly Ser Phe Gly Met Val Tyr Glu Gly
 275 280 285
 Val Ala Lys Gly Val Val Lys Asp Glu Pro Glu Thr Arg Val Ala Ile
 290 295 300
 Lys Thr Val Asn Glu Ala Ala Ser Met Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu
 305 310 315
 Asn Glu Ala Ser Val Met Lys Glu Phe Asn Cys His His Val Val Arg
 325 330 335
 Leu Leu Gly Val Val Ser Gln Gly Gln Pro Thr Leu Val Ile Met Glu
 340 345 350

Leu Met Thr Arg Gly Asp Leu Lys Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro
 355 360 365
 Glu Met Glu Asn Asn Pro Val Leu Ala Pro Pro Ser Leu Ser Lys Met
 370 375 380
 Ile Gln Met Ala Gly Glu Ile Ala Asp Gly Cys Ala Asn Leu Asn Ala
 385 390 395 400
 Asn Lys Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Val Ala
 405 410 415
 Glu Asp Phe Thr Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Thr Arg Asp Ile
 420 425 430
 Tyr Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Lys Gly Leu Leu Pro Val
 435 440 445
 Arg Trp Met Ser Pro Glu Ser Leu Lys Asp Gly Val Phe Thr Thr Tyr
 450 455 460
 Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp Glu Ile Ala Thr Leu
 465 470 475 480
 Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu Ser Asn Glu Gln Val Leu Arg Phe
 485 490 495
 Val Met Glu Gly Gly Leu Leu Asp Lys Pro Asp Asn Cys Pro Asp Met
 500 505 510
 Leu Phe Glu Leu Met Arg Met Cys Trp Gln Tyr Asn Pro Lys Met Arg
 515 520 525
 Pro Ser Phe Leu Glu Ile Ile Ser Ser Ile Lys Glu Glu Met Glu Pro
 530 535 540
 Gly Phe Arg Glu Val Ser Phe Tyr Tyr Ser Glu Glu Asn Lys Leu Pro
 545 550 555 560
 Glu Pro Glu Glu Leu Asp Leu Glu Pro Glu Asn Met Glu Ser Val Pro
 565 570 575
 Leu Asp Pro Ser Ala Ser Ser Ser Ser Leu Pro Leu Pro Asp Arg His
 580 585 590
 Ser Gly His Lys Ala Glu Asn Gly Pro Gly Pro Gly Val Leu Val Leu
 595 600 605
 Arg Ala Ser Phe Asp Glu Arg Gln Pro Tyr Ala His Met Asn Gly Gly
 610 615 620

Arg Lys Asn Glu Arg Ala Leu Pro Leu Pro Gln Ser Ser Thr Cys
625 630 635

<210> 4

<211> 19

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

10

<400> 4

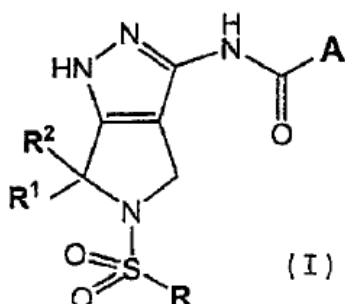
Lys Lys Lys Ser Pro Gly Glu Tyr Val Asn Ile Glu Phe Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Lys

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula (I)

5

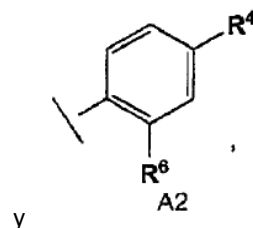
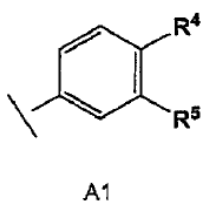
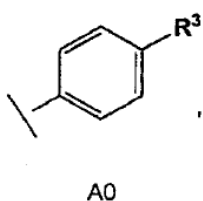


en la que:

10 R se selecciona del grupo consistente en arilo y heteroarilo halosustituido;

R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

15 A se selecciona del grupo consistente en:



20 R³ se selecciona del grupo consistente en OR⁷, NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

25 R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, OR⁷, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

R⁴ y R⁵, tomados junto a los átomos de carbono a los cuales están unidos, forman un heterocicloalquilo;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro y NHCOR¹¹;

30 R⁷ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄, arilo y heterocicloalquilo;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

35 R¹⁰ es alquilo C₁-C₄ o cicloalquilo C₃-C₅;

R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂NH₂, -CH₂NHCH₃, -CH₂N(CH₃)₂, -CH(NH₂)CH₃, y pirrolidin-2-ilo;

40 una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos,

en la que

el alquilo C₁-C₄ puede estar sustituido o no sustituido;

45

el cicloalquilo C₃-C₅ puede estar sustituido o no sustituido;

el "heterocicloalquilo" puede estar sustituido o no sustituido y

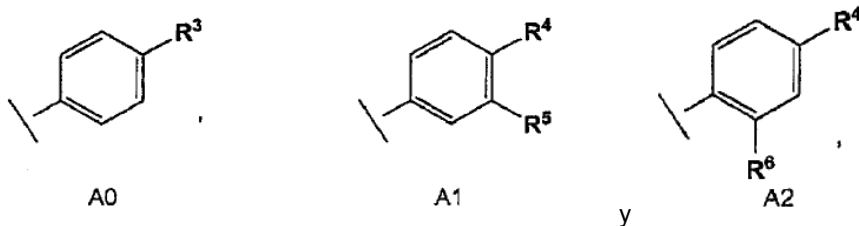
5 el "arilo" o "heteroarilo" puede estar sustituido o no sustituido.

2.Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

R es arilo halosustituido;

10

A se selecciona del grupo consistente en:



15 R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

R³ se selecciona del grupo consistente en OR⁷, NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

20 R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

R⁴ y R⁵, tomados juntos con los átomos de carbono a los que se unen, forman un heterocicloalquilo;

25

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

30

R¹⁰ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y cicloalquilo C₃-C₅; y

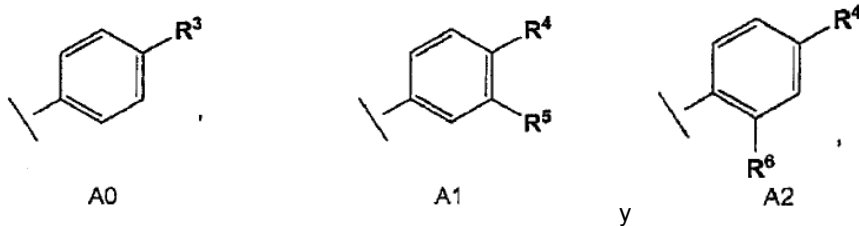
R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo, -CH₂NH₂, -CH₂NHCH₃, -CH₂N(CH₃)₂, -CH(NH₂)CH₃, y pirrolidin-2-ilo.

35

3.Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

R es arilo halosustituido;

40 A se selecciona del grupo consistente en:



45 R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

R³ es heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, trifluorometilo, nitro, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

R⁴ y R⁵, tomados juntos con los átomos de carbono a los que se unen, forman un heterocicloalquilo;

5 R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

10 R¹⁰ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y cicloalquilo C₃-C₅; y

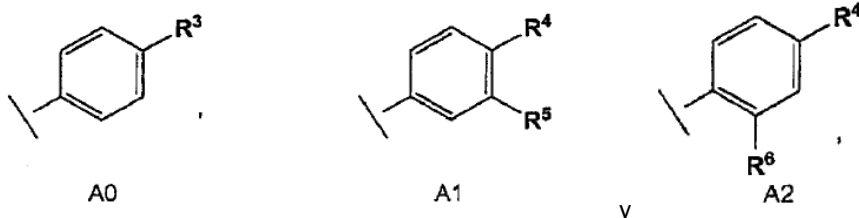
R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂ y pirrolidin-2-ilo.

15 4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

R es arilo halosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:

20



R¹ y R², que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y metilo;

25

R³ es heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

30 R⁵ se selecciona del grupo consistente en halógeno, NR⁸R⁹, NHCOR¹⁰ y alquilo C₁-C₄;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

35

R¹⁰ se selecciona del grupo consistente en alquilo C₁-C₄ y cicloalquilo C₃-C₅; y

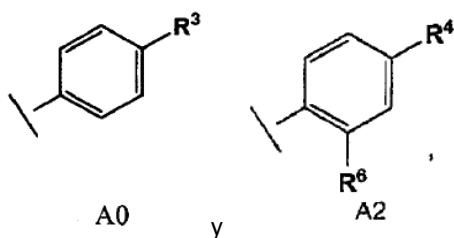
R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂ y pirrolidin-2-ilo.

40 5. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

R es arilo halosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:

45



R¹ y R² son cada uno metilo;

R³ es heterocicloalquilo;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo;

5 R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

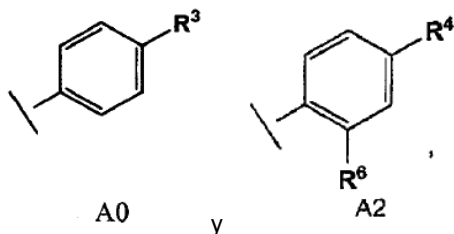
R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄; y

10 R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂.

6.Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

15 R se selecciona del grupo consistente en un fenilo 2-halosustituido, un fenilo 3-halosustituido, un fenilo 2,6-dihalosustituido y un fenilo 3,5-dihalosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:



20 R¹ y R² son cada uno metilo;

R³ es un heterocicloalquilo de seis miembros;

25 R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹ y heterocicloalquilo de seis miembros;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en halógeno y NHCOR¹¹;

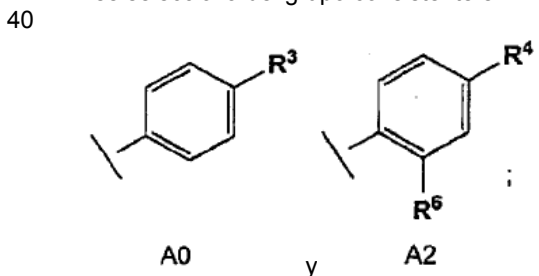
30 R⁸ y R⁹, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en hidrógeno y alquilo C₁-C₄; y

R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂.

7.Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:

35 R se selecciona del grupo consistente en un fenilo 2-halosustituido, un fenilo 3-halosustituido y un fenilo 3,5-dihalosustituido;

A se selecciona del grupo consistente en:



R¹ y R² son cada uno metilo;

45 R³ se selecciona del grupo consistente en morfolina y una piperazina sustituida;

R⁴ se selecciona del grupo consistente en NR⁸R⁹, morfolina y una piperazina sustituida;

R⁶ se selecciona del grupo consistente en flúor y NHCOR¹¹;

R⁸ y R⁹ son cada uno metilo; y

R¹¹ se selecciona del grupo consistente en isopropilo, ciclobutilo y -CH₂N(CH₃)₂.

5

8. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo consistente en:

N-[5-(cloro-tiofen-2-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

10

N-[5-(2-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

15

N-[5-(4-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

20

N-[5-(2-cloro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

N-[5-(3-cloro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

25

N-[5-(4-cloro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

N-[5-(2,6-difluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

30

N-[5-(2,5-difluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

N-[5-(3,4-difluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

35

N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

40

N-[5-(2,6-dicloro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-piperazin-1-il-benzamida;

45

4-(3,4-dimetil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;

N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-hidroximetil-piperazin-1-il)-benzamida;

50

N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(2-hidroximetil-4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-hidroximetil-4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

55

N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-metoximetil-4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

60

4-(3-benciloximetil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;

4-(3-benciloximetil-4-metil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;

65

4-(4-ciclopropil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;

- 4-(4-terc-butil-piperazin-1-il)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 5 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-hidroxi-piperidin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(3-hidroximetil-piperidin-1-il)-benzamida;
- 10 4-[(2-dimetilamino-etil)-metil-amino]-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 4-(2-dimetilamino-etilamino)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 15 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-trifluorometil-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzamida;
- 20 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzamida;
- 3-amino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 25 3-acetilamino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 30 3-(ciclopropanocarbonil-amino)-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-(2-hidroxi-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 35 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-(2-metoxi-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-hidroximetil-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 40 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-[(2-hidroxi-etil)-metil-amino]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 45 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzamida;
- [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 1-metil-1,2,3,4-tetrahidro-quinoxalin-6-carboxílico;
- 50 [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 1-ciclopropanocarbonil-1,2,3,4-tetrahidro-quinoxalin-6-carboxílico;
- [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- 55 [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-etil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-isopropil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- 60 [5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-(2-hidroxi-etil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico;
- 65 N-[5-(2-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(2-metil-piperazin-1-il)-benzamida;

- N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 5 N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- 4-dimetilamino-N-[5-(3-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 10 N-[5-(4-fluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,4-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 15 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-piperazin-1-il-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 20 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-etil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 25 4-(4-terc-butil-piperazin-1-il)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- 30 4-(4-ciclopropil-piperazin-1-il)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- 35 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-benzamida;
- 40 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-2-nitro-benzamida;
- 45 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-3-fluoro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-nitro-benzamida;
- 50 2-acetilamino-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-isobutirilamino-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 55 2-(ciclobutanocarbonil-amino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 60 2-(2-amino-acetilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetraidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-metilamino-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 65

- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 5 2-((S)-2-amino-propionilamino-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida;
- 10 [2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amida del ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico;
[2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amida del ácido (R)-pirrolidin-2-carboxílico;
- 15 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-2-nitro-benzamida;
- 20 2-(2-amino-acetilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-morfolin-4-il-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-metilamino-acetilamino)-4-morfolin-4-il-benzamida;
- 25 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-4-morfolin-4-il-benzamida;
- {2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-morfolin-4-il-fenil]-amida del ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico;
- 30 {2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-morfolin-4-il-fenil]-amida del ácido (R)-pirrolidin-2-carboxílico;
- 35 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-2-nitro-benzamida;
- 2-(2-amino-acetilamino)-N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-benzamida;
- 40 N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-2-(2-metilamino-acetilamino)-benzamida;
- N-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-4-dimetilamino-2-(2-dimetilamino-acetilamino)-benzamida;
- 45 {2-[5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-ilcarbamoil]-5-dimetilamino-fenil]-amida del ácido pirrolidin-2-carboxílico;
- [5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico; y
- 50 [5-(3,5-difluoro-bencenosulfonil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidro-pirrolo[3,4-c]pirazol-3-il]-amida del ácido 4-(2-hidroxietil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-7-carboxílico.
- 55 9.Una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 10.Un método in-vitro de inhibición de la actividad tirosina cinasa de receptores de IGF-1R, que comprende la administración a los receptores de IGF-1R de una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1 que es eficaz en la inhibición de la actividad tirosina cinasa de los receptores de IGF-1R.
- 60 11.Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, para el uso como medicamento.
- 65 12.Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, para el uso en un método para el tratamiento de un trastorno o enfermedad en un mamífero, en el que dicho trastorno o enfermedad se selecciona del grupo consistente en cáncer, trastornos proliferativos celulares, infecciones víricas, retinopatías, degeneración macular asociada a la edad, aterosclerosis, enfermedades que implican proliferación del músculo liso vascular o formación de neointima, reestenosis después de angioplastia o cirugía, enfermedades de injertos vasculares, acromegalia, trastornos secundarios de la acromegalia, enfermedades

hipertróficas en las que está involucrada la señalización de IGF/IGF-1R, hiperplasia benigna de próstata, psoriasis, fibrosis pulmonar, patologías relacionadas con el estrés oxidativo crónico o agudo o el daño tisular inducido por hiperoxia, trastornos metabólicos en los que están implicados niveles elevados de IGF o actividad de IGF-1R, y obesidad.

5

FIGURA 1

SEC. ID. N° 3

MGSPILGYWKIKGLVQPTRLLEYLEEKYEEHLYERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVK
LTQSMAIIRYIADKHNMLGGCPKERAEISMLEGAVLDIRYGVSRAYSKDFETLKVDFLSKLPEMLK
MFEDRLCHKTYLNGDHVTHPDFMLYDALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIQIDKYLKSS
KYIAWPLQGWQATFGGGDHPPKSDLEVLFGQPGSRKRNSRLGNGVLYASVNPEYFSAADV
VPDEWEVAREKITMSRELGQGSFGMVYEGVAKGVVKDEPETRVAIKTVNEAASMRERIEFLNEA
SVMKEFNCHHVRLGVSQGGPTLVIMELMTRGDLKSYLRSLRPEMENNPLAPPSSLKMIQM
AGEIADGCANLNANKFVHRDLAARNCMVAEDFTVKIGDFGMTRDIYETDYRKGKGLLPVRW
MSPELKDGVFTTYSVDVWSFGVWLWEIATLAEQPYQGLSNEQVLRVMEGGLLDKPDNCPDML
FELMRMCWQYNPKMRPSFLEIISSIKEEMEPGFREVSFYSEENKLPPEEELDLEPENMESVPLD
PSASSSSLPLPDRHSGHKAENGGPGVLVLRASFDERQPYAHMNGGRKNERALPLPQSSTC

FIGURA 2

