

Bf



Libertad y Orden

REPÚBLICA DE COLOMBIA
DIVISIÓN DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

PCT
PATENTE DE INVENCION



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

05-102549

TITULO: COMPUESTOS HETEROCICLICOS INMUNOMODULADORES

SOLICITANTE: AVIDEX LIMITED

A6IP3/10.

CLASIFICACION INTERNACIONAL :

A61K31/5025.

DIRECCIÓN 57 C Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX, Gran
Bretaña

APODERADO CARLOS R. OLARTE

SS

BOGOTÁ, Octubre 7 de 2005

OLARTE RAISBECK

05/92



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 63102549 66666666
 Fecha (AMD) : 2005-10-07 16:56:37
 Folios: 186
 tramite : 011 PCT-PALMNT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
 Dependencia: 2626 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
 (71)**

Nombre: AVIDEX LIMITED

Dirección: 57 C Milton Park, Abingdon,
 Oxfordshire OX14 4RX, Gran Bretaña

Nacionalidad o Domicilio: BRITANICA

Lugar de Constitución: Gran Bretaña

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número _____

3

**REPRESENTANTE
 O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
 Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número 79.782.747 Btá
 TP 74.295

4

**INVENTOR (ES)
 (72)**

Nombre: IAN RICHARD MATHEWS

Dirección: 57 C Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX, Gran
 Bretaña.

Nacionalidad o Domicilio: BRITANICA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/GB2004/001008

Fecha Marzo 10, 2004

Publicación Internacional No. WO 2004/081011

Fecha Septiembre 23, 2004

6

Título (54) COMPUESTOS HETEROCICLICOS INMUNOMODULADORES.

7

**Clasificación Internacional (51) G07D 487/04, 519/00, A61K 31/5025, A61P
 3/10, 17/06, 19/02, 37/00.**

8

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

GB

GB

(32) Fecha

Marzo 14, 2003

Agosto 19, 2003

(31) Número de Solicitud

0305876.5

0319429.7

9

Comprobante de pago No. 77,058

Fecha

Octubre 6, 2005

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones.

☒

Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud Internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☒

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, Información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
Radicacion : 05102549 00090000 Folios: 186
Fecha (MM): 2005-10-07 16:56:37
Tramite : 011 PCI-PATENT 379 FASE NAL 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 77,058
FECHA : OCTUBRE 6 DE 2005

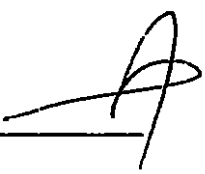
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBE6R	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	41777111	05/10/2005	3,010,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN 443,000.00
			TOTAL : \$ 443,000.00

SON: CUATROCIENTOS CUARENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____ 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
23 September 2004 (23.09.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/081011 A1

(51) International Patent Classification⁷: C07D 487/04,
519/00, A61K 31/5025, A61P 3/10, 17/06, 19/02, 37/00

(21) International Application Number:
PCT/GB2004/001008

(22) International Filing Date: 10 March 2004 (10.03.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0305876.5 14 March 2003 (14.03.2003) GB
0319429.7 19 August 2003 (19.08.2003) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): AVIDEX
LIMITED [GB/GB]; 57 C Milton Park, Abingdon, Ox-
fordshire OX14 4RX (GB).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): MATHEWS, Ian,
Richard [GB/GB]; Avidex Limited, 57 C Milton Park,
Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX (GB).

(74) Agent: WALLS, Alan, James; Avidex Limited, 57C Mil-
ton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AI, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GH, GI, GM, GR, GU, HT, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PI, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

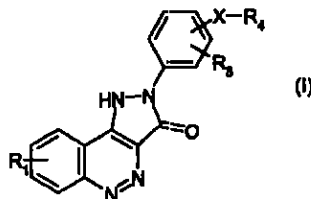
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Euro-
pean (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: IMMUNOMODULATING HETEROCYCLIC COMPOUNDS



(57) Abstract: Compounds of formula (I) are inhibitors of CD80 and useful in immunomodulation therapy: wherein R_1 and R_2 independently represent H; F; Cl; Br; $-NO_2$; $-CN$; C_1-C_4 alkyl optionally substituted by F or Cl; or C_1-C_4 alkoxy optionally substituted by F; R_4 represents a carboxylic acid group ($-COOH$) or an ester thereof, or $-C(=O)NR_7R_8$, $-NR_7C(=O)R_8$, $-NR_7C(=O)OR_8$, $-NHIC(=O)NR_7R_8$ or $-NHC(=S)NR_7R_8$ wherein R_4 represents H, or a radical of formula $-(Alk)_m-Q$ wherein m is 0 or 1, Alk is an optionally substituted divalent straight or branched C_1-C_{12} alkylene, or C_2-C_{12} alkenylene, or C_2-C_{12} alkynylene radical or a divalent C_3-C_{12} carbocyclic radical, any of which radicals may contain one or more $-O-$, $-S-$ or $-N(R_9)-$ links wherein R_9 represents H or C_1-C_4 alkyl, C_3-C_4 alkenyl, C_3-C_4 alkynyl, or C_3-C_4 cycloalkyl, and Q represents H; $-NR_9R_{10}$ wherein R_9 and R_{10} independently represent H; C_1-C_4 alkyl; C_3-C_4 alkenyl; C_3-C_4 alkynyl; C_3-C_4 cycloalkyl; an ester group; an optionally substituted carbocyclic or heterocyclic group; or R_9 and R_{10} form a ring when taken together with the nitrogen to which they are attached, which ring is optionally substituted; and R_7 represents H or C_1-C_4 alkyl; or when taken together with the atom or atoms to which they are attached R_4 and R_7 form an optionally substituted monocyclic heterocyclic ring having 5, 6 or 7 ring atoms; and X represents a bond or a divalent radical of formula $-(Z)_n-(Alk)-$ or $-(Alk)-(Z)_n-$ wherein Z represents $-O-$, $-S-$ or $-NH-$, Alk is as defined in relation to R_4 and n is 0 or 1.

WO 2004/081011 A1

Immunomodulating Heterocyclic Compounds

The present invention relates to novel heterocyclic compounds, to methods for their preparation, to compositions containing them, and to methods and use
5 for clinical treatment of medical conditions which may benefit from immunomodulation, e.g. autoimmune disease, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, diabetes, asthma, transplantation, systemic lupus erythematosus and psoriasis. More particularly the present invention relates to novel heterocyclic compounds, which are CD80 antagonists capable of inhibiting the
10 interactions between CD80 and CD28, useful for immuno-inhibition.

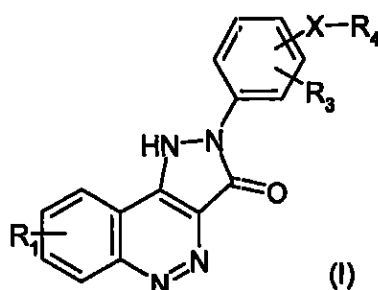
Background to the Invention

The immune system possesses the ability to control the homeostasis between the activation and inactivation of lymphocytes through various regulatory
15 mechanisms during and after an immune response. Among these are mechanisms that specifically inhibit and/or turn off an immune response. Thus, when an antigen is presented by MHC molecules to the T-cell receptor, the T-cells become properly activated only in the presence of additional co-stimulatory signals. In the absence of these accessory signals there is no
20 lymphocyte activation and either a state of functional inactivation termed anergy or tolerance is induced, or the T-cell is specifically deleted by apoptosis.

One such co-stimulatory signal involves interaction of CD80 on specialised
25 antigen-presenting cells with CD28 on T-cells, and this signal has been demonstrated to be essential for full T-cell activation. (Lenschow *et al.* (1996) *Annu. Rev. Immunol.*, 14, 233-258). It would therefore be desirable to provide compounds which inhibit this CD80/CD28 interaction.

30 Detailed Description of the Invention

According to the present invention there is provided a compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof:



wherein

R_1 and R_3 independently represent H; F; Cl; Br; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl optionally substituted by F or Cl; or $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkoxy optionally substituted by F;

R_4 represents a carboxylic acid group ($-\text{COOH}$) or an ester thereof, or $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$, $-\text{NR}_7\text{C}(=\text{O})\text{R}_6$, $-\text{NR}_7\text{C}(=\text{O})\text{CR}_6$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_8$ or $-\text{NHC}(=\text{S})\text{NR}_7\text{R}_8$ wherein

R_6 represents H, or a radical of formula $-(\text{Alk})_m\text{-Q}$ wherein

m is 0 or 1

Alk is an optionally substituted divalent straight or branched $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkylene, or $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkenylene, or $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkynylene radical or a divalent $\text{C}_3\text{-C}_{12}$ carbocyclic radical, any of which radicals may contain one or more $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ or $-\text{N}(\text{R}_8)-$ links wherein R_8 represents H or $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl, $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkenyl, $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkynyl, or $\text{C}_3\text{-C}_6$ cycloalkyl, and

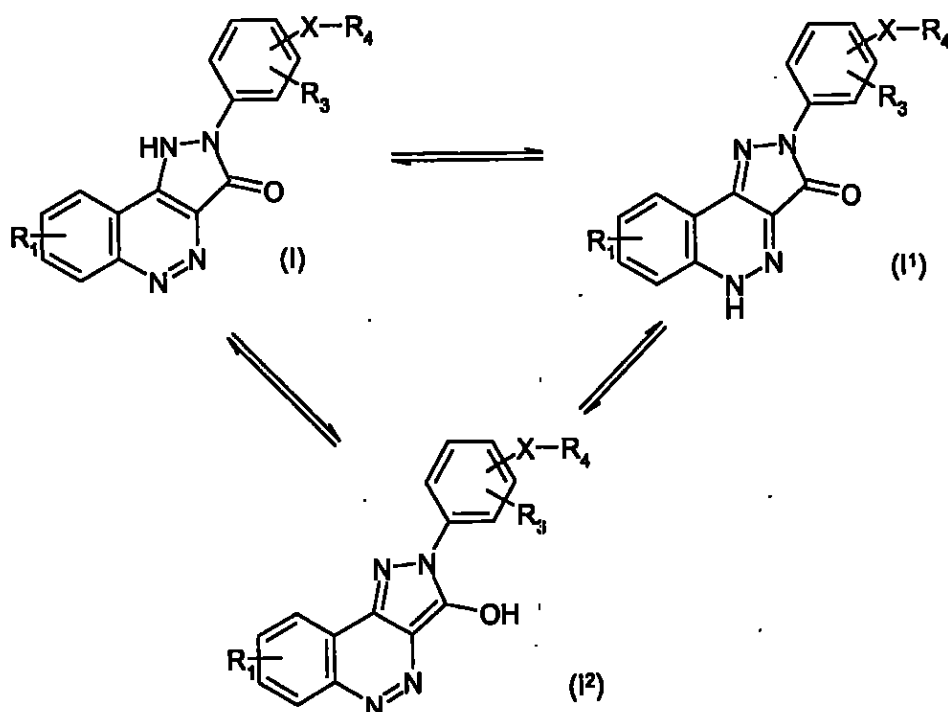
Q represents H; $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$ wherein R_9 and R_{10} independently represent H; $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl; $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkenyl; $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkynyl; $\text{C}_3\text{-C}_6$ cycloalkyl; an ester group; an optionally substituted carbocyclic or heterocyclic group; or R_9 and R_{10} form a ring when taken together with the nitrogen to which they are attached, which ring is optionally substituted; and

R_7 represents H or $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl; or when taken together with the atom or atoms to which they are attached R_6 and R_7 form an optionally

substituted monocyclic heterocyclic ring having 5, 6 or 7 ring atoms;
and

- X represents a bond or a divalent radical of formula $-(Z)_n-(Alk)-$ or
5 $-(Alk)-(Z)_n-$ wherein Z represents $-O-$, $-S-$ or $-NH-$, Alk is as defined in
relation to R_6 and n is 0 or 1.

Compounds (I) may exist in the form of tautomers, such as (I¹) and (I²):



10

Hereafter, the compounds of the invention may be represented and referred to
in any tautomeric form (I), and it is to be understood that any and all
tautomeric forms of structure (I), in particular (I¹) and (I²), are included in the
invention.

15

Compounds of general formula (I) are CD80 antagonists. They inhibit the
interaction between CD80 and CD28 and thus the activation of T cells,
thereby modulating the immune response.

Accordingly the invention also includes:

- (i) a compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt thereof for use in the treatment of conditions which benefit from immunomodulation, and in particular for immuno-inhibition.
- (ii) the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt thereof in the manufacture of a medicament for the treatment of conditions which benefit from immunomodulation, and in particular for immuno-inhibition.
- (iii) a method of immunomodulation, and in particular immuno-inhibition, in mammals, including humans, comprising administration to a mammal in need of such treatment an immunomodulatory effective dose of a compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt thereof.
- (iv) a pharmaceutical or veterinary composition comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt thereof together with a pharmaceutically or veterinarily acceptable excipient or carrier.

Conditions which benefit from immunomodulation include:

- Acute disseminated encephalomyelitis
Adrenal insufficiency
Allergic angitis and granulomatosis
Amyloidosis
Ankylosing spondylitis
Asthma
Autoimmune Addison's disease
Autoimmune alopecia
Autoimmune chronic active hepatitis
Autoimmune haemolytic anaemia
Autoimmune Neutrogena
Autoimmune thrombocytopenic purpura
Behçet's disease

- Cerebellar degeneration
- Chronic active hepatitis
- Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy
- Chronic neuropathy with monoclonal gammopathy
- 5 Classic polyarteritis nodosa
- Congenital adrenal hyperplasia
- Cryopathies
- Dermatitis herpetiformis
- Diabetes
- 10 Eaton-Lambert myasthenic syndrome
- Encephalomyelitis
- Epidermolysis bullosa acquisita
- Erythema nodosa
- Gluten-sensitive enteropathy
- 15 Goodpasture's syndrome
- Guillain-Barre syndrome
- Hashimoto's thyroiditis
- Hyperthyroidism
- Idiopathic hemochromatosis
- 20 Idiopathic membranous glomerulonephritis
- Isolated vasculitis of the central nervous system
- Kawasaki's disease
- Minimal change renal disease
- Miscellaneous vasculitides
- 25 Mixed connective tissue disease
- Multifocal motor neuropathy with conduction block
- Multiple sclerosis
- Myasthenia gravis
- Opsoclonus-myoclonus syndrome
- 30 Pemphigoid
- Pemphigus
- pernicious anaemia
- Polymyositis/dermatomyositis
- Post-infective arthritides

- Primary biliary sclerosis
- Psoriasis
- Reactive arthritides
- Reiter's disease
- 5 Retinopathy
- Rheumatoid arthritis
- Sclerosing cholangitis
- Sjögren's syndrome
- Stiff-man syndrome
- 10 Subacute thyroiditis
- Systemic lupus erythematosus
- Systemic necrotizing vasculitides
- Systemic sclerosis (scleroderma)
- Takayasu's arteritis
- 15 Temporal arteritis
- Thromboangitis obliterans
- Type I and type II autoimmune polyglandular syndrome
- Ulcerative colitis
- Uveitis
- 20 Wegener's granulomatosis

As used herein, the term "ester" refers to a group of the form $-\text{COOR}$, wherein R is a radical notionally derived from the alcohol ROH. Examples of ester groups include the physiologically hydrolysable esters such as the methyl, ethyl, n- and iso-propyl, n-, sec- and tert-butyl, and benzyl esters.

As used herein the term "alkylene" refers to a straight or branched alkyl chain having two unsatisfied valencies, for example $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, and $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$.

As used herein the term "alkenylene" refers to a straight or branched alkenyl chain having two unsatisfied valencies, for example $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$, and $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHCH}_2-$.

As used herein the term "alkynylene" refers to a straight or branched alkynyl chain having two unsatisfied valencies, for example $\text{—C}\equiv\text{C—}$, $\text{—CH}_2\text{C}\equiv\text{C—}$, and $\text{—CH(CH}_2\text{CH}_3\text{)C}\equiv\text{CCH}_2\text{—}$.

- 5 Unless otherwise specified in the context in which it occurs, the term "substituted" as applied to any moiety herein means substituted with at least one substituent, selected from, for example, (C₁–C₈)alkyl, (C₁–C₈)alkenyl, (C₂–C₈)alkynyl, fluoro-substituted(C₁–C₈)alkyl, fluoro-substituted(C₁–C₈)alkenyl, fluoro-substituted(C₂–C₈)alkynyl, (C₁–C₈)alkoxy and fluoro-substituted(C₁–C₈)alkoxy (including the special case where a ring is substituted on adjacent ring C atoms by alkylenedioxy such as methylenedioxy or ethylenedioxy), (C₁–C₈)alkylthio, phenyl, benzyl, phenoxy, benzyloxy, hydroxy, mercapto, amino, fluoro, chloro, bromo, cyano, nitro, oxo, —COOH , $\text{—SO}_2\text{OH}$, —CONH_2 , $\text{—SO}_2\text{NH}_2$, —COR^A , —COOR^A , $\text{—SO}_2\text{OR}^A$, —NHCOR^A , $\text{—NHSO}_2\text{R}^A$, —CONHR^A , $\text{—SO}_2\text{NHR}^A$, —NHR^A , $\text{—NR}^A\text{R}^B$, $\text{—CONR}^A\text{R}^B$ or $\text{—SO}_2\text{NR}^A\text{R}^B$ wherein R^A and R^B are independently a (C₁–C₈)alkyl or (C₂–C₈)alkoxy group or a monocyclic carbocyclic or heterocyclic group of from 5-7 ring members, or R^A and R^B form a ring when taken together with the nitrogen to which they are attached. In the case where "substituted" means substituted by phenyl, benzyl, phenoxy, or benzyloxy, the phenyl ring thereof may itself be substituted with any of the foregoing, except phenyl, benzyl, phenoxy, or benzyloxy.

- As used herein the term "aryl" refers to a mono-, bi- or tri-cyclic carbocyclic aromatic radical, and to two such radicals covalently linked to each other, illustrative of such radicals are phenyl, biphenyl and naphthyl.

- As used herein the unqualified term "carbocyclyl" or "carbocyclic" includes aryl, cycloalkyl and cycloalkenyl and refers to a ring system (monocyclic, bicyclic, tricyclic or bridged) whose ring atoms are all carbon.

- 30 As used herein the unqualified term "cycloalkyl" refers to a carbocyclic ring system which contains only single bonds between ring carbons.

As used herein the unqualified term "cycloalkenyl" refers to a carbocyclic ring system which contains at least one double bond between a pair of ring carbons.

- 5 As used herein the term "heteroaryl" refers to a mono-, bi- or tri-cyclic aromatic radical containing one or more heteroatoms selected from S, N and O. Illustrative of such radicals are thienyl, benzthienyl, furyl, benzfuryl, pyrrolyl, imidazolyl, benzimidazolyl, thiazolyl, benzthiazolyl, isothiazolyl, benzisothiazolyl, pyrazolyl, oxazolyl, benzoxazolyl, isoxazolyl, benzisoxazolyl, 10 isothiazolyl, triazolyl, benztriazolyl, thiadiazolyl, oxadiazolyl, pyridinyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, triazinyl, indolyl and indazolyl.

- As used herein the unqualified term "heterocyclyl" or "heterocyclic" includes "heteroaryl" as defined above, and in particular means a mono-, bi- or tri- 15 cyclic or bridged non-aromatic radical containing one or more heteroatoms selected from S, N and O, and to groups consisting of a monocyclic non-aromatic radical containing one or more such heteroatoms which is covalently linked to another such radical or to a monocyclic carbocyclic radical. Illustrative of such radicals are pyrrolyl, furanyl, tetrahydrofuranyl, thienyl, 20 piperidinyl, imidazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, pyrazolyl, pyridinyl, pyrrolidinyl, pyrimidinyl, morpholinyl, piperazinyl, indolyl, morpholinyl, benzfuranyl, pyranyl, tetrahydropyranyl, quinuclidinyl, isoxazolyl, benzimidazolyl, methylenedioxyphenyl, ethylenedioxyphenyl, maleimido and succinimido groups.

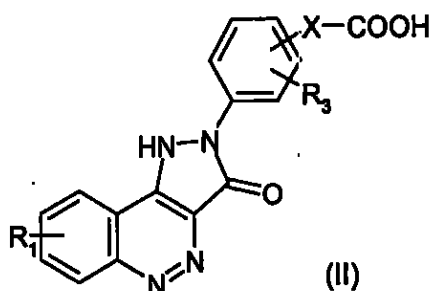
- 25 Some compounds of the invention contain one or more chiral centres because of the presence of asymmetric carbon atoms. The presence of asymmetric carbon atoms gives rise to stereoisomers or diastereoisomers with R or S stereochemistry at each chiral centre. The invention includes all such 30 stereoisomers and diastereoisomers and mixtures thereof.

Salts of salt forming compounds of the invention include physiologically acceptable acid addition salts and base salts. Suitable acid addition salts are formed from acids which form non-toxic salts. Examples include the acetate,

- aspartate, benzoate, besylate, bicarbonate/carbonate, bisulphate/sulphate, borate, camsylate, citrate, edisylate, esylate, formate, fumarate, gluceptate, gluconate, glucuronate, hexafluorophosphate, hibenzate, hydrochloride/chloride, hydrobromide/bromide, hydroiodide/iodide,
- 5 isethionate, lactate, malate, maleate, malonate, mesylate, methylsulphate, naphthylate, 2-napsylate, nicotinate, nitrate, orotate, oxalate, palmitate, pamoate, phosphate/hydrogen phosphate/dihydrogen phosphate, saccharate, stearate, succinate, tartrate, tosylate and trifluoroacetate salts. Suitable base salts are formed from bases which form non-toxic salts. Examples include the
- 10 aluminium, arginine, benzathine, calcium, choline, diethylamine, diolamine, glycine, lysine, magnesium, meglumine, olamine, potassium, sodium, tromethamine and zinc salts.

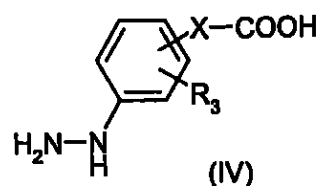
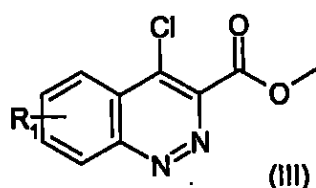
Methods

- 15 Compounds of the invention wherein R_4 represents an amide group $-C(=O)NR_6R_7$ may be prepared by reaction of the appropriate amine HNR_6R_7 with a compound of formula (II) to amidate the carboxylic acid group:

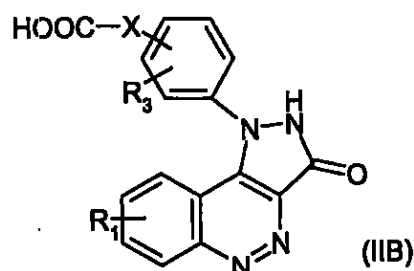
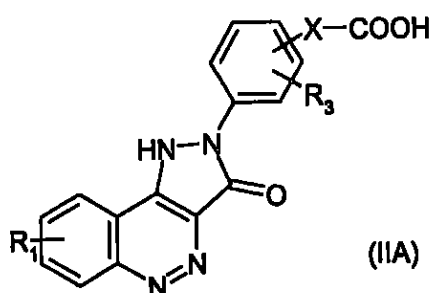


- the symbols R_1 , R_3 , X , R_6 and R_7 being as defined in relation to formula (I)
- 20 above.

- Compounds (II) (ie compounds (I) of the invention wherein R_4 is a carboxylic acid group) may be prepared by reaction of a compound of formula (III) with a hydrazine of formula (IV):



This reaction may result in the preparation of a mixture of the position isomers (IIA) and (IIB):

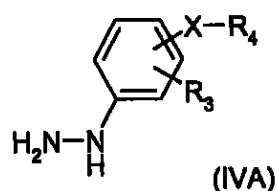


5

from which the desired isomer (IIA) may be separated.

Compounds (I) wherein R_4 is an ester or amide group may also be prepared from intermediate (III) by reaction with the appropriate hydrazine (IVA)

10

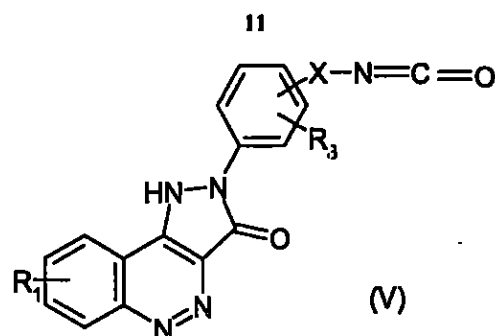


wherein R_4 is an ester or amide group. Again the reaction may result in a mixture of the ester or amide analogues of the carboxylic acids (IIA) and (IIB), from which the desired ester or amide isomer (I) may be separated.

15 Alternatively, the carboxylic acid compound (II) may simply be esterified, or amidated.

Compounds (I) wherein R_4 is a "reverse amide" group $-NR_7C(=O)R_8$ may be prepared by Curtius rearrangement (see Ninomiya, K.; Shiomi, T.; Yamada, S.

20 Tetrahedron (1974), 30(14), 2151-7) of the carboxylic acid (II) to the isocyanate (V)



followed by hydrolysis of the isocyanate group to an amino group and
acylation of the amino group with, for example, the acid chloride Cl-C(=O)R_6 .
In cases where R_7 is not hydrogen, the R_7 substituent may be introduced after
5 the isocyanate reduction step or after the acylation step.

In an alternative route to the "reverse amide" ($\text{R}_4 = -\text{NR}_7\text{C(=O)R}_6$) compounds
of the invention, a compound of structure (V) in which the isocyanate moiety is
replaced by a nitro group may be reduced to the corresponding amine, which
10 may then be acylated to form the desired reverse amide.

Compounds (I) wherein R_4 is a urea group $-\text{NHC(=O)NHR}_6$ or thiourea group
 $-\text{NHC(=S)NHR}_6$ may also be prepared from the isocyanate (V) or the
corresponding isothiocyanate by reaction with the appropriate amine H_2NR_6 .

15

Compounds (I) wherein R_4 is a carbamate group $-\text{NR}_7\text{C(=O)OR}_6$ may be
prepared by the reaction of the isocyanate with an appropriate alcohol R_6OH .

Further details of the synthetic methods for the preparation of compounds (I)
20 of the invention, and intermediates such as (III), may be found in the
examples herein.

In the compounds of the invention:

The radical $\text{R}_4\text{X-}$ is preferably in the 4-position of the phenyl ring.

25

X may be, for example a bond, or a $-\text{CH}_2-$ or $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ radical. A bond is
presently preferred.

R_3 may be, for example, H, F, Cl, methyl, methoxy, or methylenedioxy.
Currently it is preferred that R_3 is H.

R_1 may be, for example, H, F, Cl, methyl, methoxy, or methylenedioxy.

- 5 Currently it is preferred that R_1 be hydrogen or fluoro, particularly in the 6-position of the 3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl ring system.

- R_4 represents a carboxylic acid group (-COOH) or an ester thereof, or
-C(=O)NR₆R₇, -NR₇C(=O)R₆, -NR₇C(=O)OR₆ or -NHC(=O)NHR₆, all as
10 defined above.

When R_4 is an ester group, examples include those of formula -COOR
wherein R is methyl, ethyl n- or iso-propyl, n-, sec- or tert-butyl, or
benzyl ester.

15

R_6 , when present, represents H, or a radical of formula -(Alk)_m-Q
wherein m, Alk and Q being as defined above. When m is 1, Alk may
be, for example a straight or branched C₁-C₈ alkylene radical, such as
-CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, and -CH₂CH(CH₃)CH₂-. Alk may also
20 be, for example, a divalent cyclopropylene, cyclopentylene or
cyclohexylene radical. The radical Alk may be optionally substituted by,
for example, OH, oxo, CF₃, methoxy or ethoxy. The radical Alk may
optionally contain a hetero atom, for example in the form of an ether,
thioether or amino linkage.

25

The group Q may represent, for example, hydrogen; -NR₉R₁₀ wherein
R₉ and R₁₀ may be the same or different and selected from hydrogen,
methyl, ethyl, n- or isopropyl or tert-butyl; an ester group for example a
methyl, ethyl or benzyl ester; or an optionally substituted aryl, aryloxy,
30 cycloalkyl, cycloalkenyl or heterocyclic group, for example phenyl,
phenoxy, cyclopentyl, cyclohexyl, furyl, thienyl, quinolindyl, piperidyl,
or piperazinyl group.

30

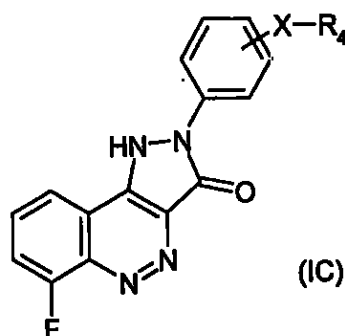
R_7 when present represents H or C_1-C_8 alkyl, for example methyl, ethyl n- or iso-propyl, n-, sec- or tert-butyl; or when taken together with the atom or atoms to which they are attached R_6 and R_7 form a monocyclic heterocyclic ring having 5, 6 or 7 ring atoms.

5

Especially preferred are the cases where R_4 represents $-C(=O)NR_6R_7$ or $-NHC(=O)NR_7R_6$ wherein R_7 is hydrogen and R_6 represents a radical of formula $-(Alk)_m-Q$ wherein m is 1 and the divalent radical Alk contains 3 or 4 carbon atoms and is unsubstituted, and Q represents $-NR_9R_{10}$ wherein R_9 and R_{10} independently represents H; C_1-C_4 alkyl; C_3-C_4 alkenyl; C_3-C_4 alkynyl; C_3-C_8 cycloalkyl; an ester group; an optionally substituted carbocyclic or heterocyclic group; or form a ring when taken together with the nitrogen to which they are attached, which ring is optionally substituted.

10

15 A specific preferred subset of compounds of the invention has formula (IC):

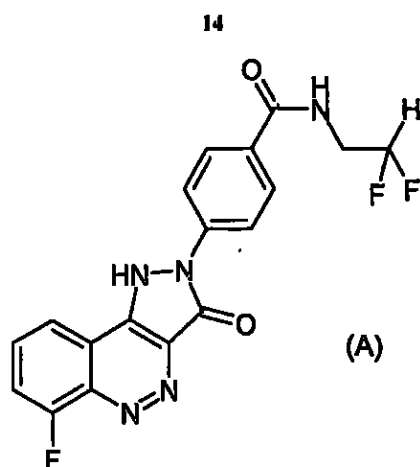


wherein X and R_4 are as specified above. In this subset, the radical R_4X may be in the 4-position of the phenyl ring. This subset includes in particular, compounds wherein X is a bond and R_4 is $-C(=O)NR_6R_7$ wherein R_6 and R_7 are as specified above. For example, in such compounds R_6 may be quinuclidinyl and R_7 hydrogen.

20

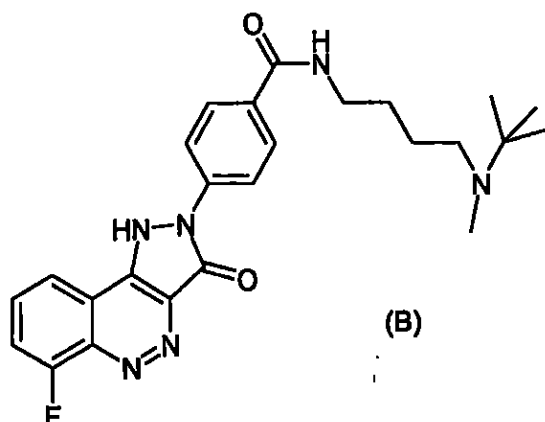
Specific compounds of the invention include those of the Examples herein.

25 A preferred compound of the invention is 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-N-(2,2-difluoro-ethyl)-benzamide, of formula (A)



or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof.

- 5 Another preferred compound of the invention is N-[3-(tert-butyl-methyl-amino)-butyl]-4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-benzamide, of formula (B):



- 10 or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof.

- As mentioned above, the invention includes pharmaceutical or veterinary composition comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt thereof together with a pharmaceutically or veterinarily acceptable excipient or carrier. In such compositions, it will be understood that the specific dose level for any particular patient will depend upon a variety of factors including the activity of the specific compound
- 15

employed, the age, body weight, general health, sex, diet, time of administration, route of administration, rate of excretion, drug combination and the cause and severity of the particular disease undergoing therapy. Optimum dose levels and frequency of dosing will be determined by clinical trial.

5

The compounds with which the invention is concerned may be prepared for administration by any route consistent with their pharmacokinetic properties.

The orally administrable compositions may be in the form of tablets, capsules, powders, granules, lozenges, liquid or gel preparations, such as oral, topical, or sterile parenteral solutions or suspensions. Tablets and capsules for oral administration may be in unit dose presentation form, and may contain conventional excipients such as binding agents, for example syrup, acacia, gelatin, sorbitol, tragacanth, or polyvinyl-pyrrolidone; fillers for example lactose, sugar, maize-starch, calcium phosphate, sorbitol or glycine; tableting lubricant, for example magnesium stearate, talc, polyethylene glycol or silica; disintegrants for example potato starch, or acceptable wetting agents such as sodium lauryl sulphate. The tablets may be coated according to methods well known in normal pharmaceutical practice. Oral liquid preparations may be in the form of, for example, aqueous or oily suspensions, solutions, emulsions, syrups or elixirs, or may be presented as a dry product for reconstitution with water or other suitable vehicle before use. Such liquid preparations may contain conventional additives such as suspending agents, for example sorbitol, syrup, methyl cellulose, glucose syrup, gelatin hydrogenated edible fats; emulsifying agents, for example lecithin, sorbitan monooleate, or acacia; non-aqueous vehicles (which may include edible oils), for example almond oil, fractionated coconut oil, oily esters such as glycerine, propylene glycol, or ethyl alcohol; preservatives, for example methyl or propyl p-hydroxybenzoate or sorbic acid, and if desired conventional flavouring or colouring agents.

30 For topical application to the skin, the drug may be made up into a cream, lotion or ointment. Cream or ointment formulations which may be used for the drug are conventional formulations well known in the art, for example as described in standard textbooks of pharmaceuticals such as the British Pharmacopoeia.

For topical application to the eye, the drug may be made up into a solution or suspension in a suitable sterile aqueous or non aqueous vehicle. Additives, for instance buffers such as sodium metabisulphite or disodium edeate; 5 preservatives including bactericidal and fungicidal agents such as phenyl mercuric acetate or nitrate, benzalkonium chloride or chlorhexidine, and thickening agents such as hypromellose may also be included.

10 The active ingredient may also be administered parenterally in a sterile medium. Depending on the vehicle and concentration used, the drug can either be suspended or dissolved in the vehicle. Advantageously, adjuvants such as a local anaesthetic, preservative and buffering agents can be dissolved in the vehicle.

15 Embodiments of the invention are described in the following non-limiting Examples:

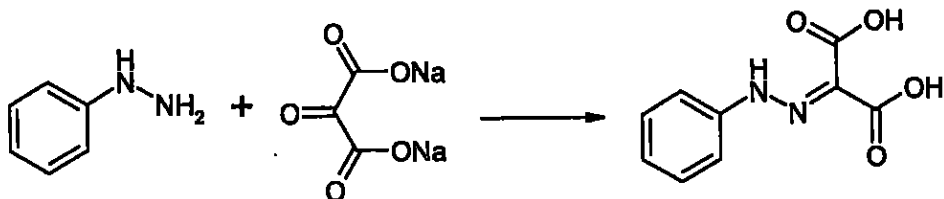
The following abbreviations are used in the experimental descriptions:

DMF	Dimethyl formamide
DMA	Dimethyl acetamide
DMSO	Dimethyl sulphoxide
HBTU	O-Benzotriazol-1-yl-N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate
HPLC	High performance liquid chromatography
LCMS	Liquid chromatography mass spectrum
NMR	Nuclear magnetic resonance spectroscopy

20

Example 1

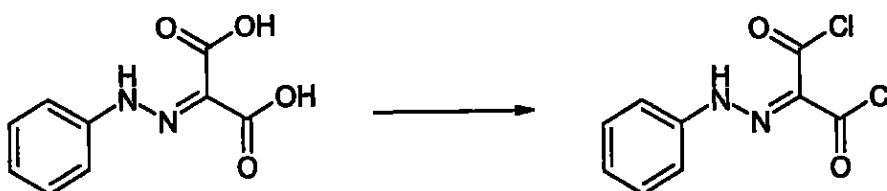
Step 1: Preparation of (phenylhydrazono)malonic acid:



Sodium mesoxalate monohydrate (5.00 g, 27.8 mmol) was dissolved in 1 M
5 hydrochloric acid (50 ml) to give a colourless cloudy solution. Phenylhydrazine
(3.00 g, 2.72 ml, 27.8 mmol) was added dropwise at room temperature to the
stirred mixture. A yellow precipitate formed, was collected by filtration after 90
min and washed with water (50 ml). The filter cake was triturated with ethyl
acetate / hexane [1:1], filtered and dried under vacuum. The title compound
10 was isolated as a yellow powder (4.74 g, 22.7 mmol, 82%). LCMS: m/z 207
[M-H]⁺.

Alternatively the product can be extracted from the aqueous phase with ethyl
acetate (2 x 250 ml), the organic phase dried over magnesium sulphate,
15 filtered and the solvent removed under vacuum.

Step 2: Preparation of (phenylhydrazono)malonyl dichloride:



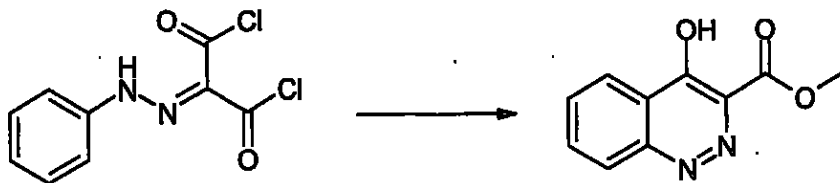
20

(Phenylhydrazono)malonic acid (1.00 g, 4.80 mmol) was mixed under inert
atmosphere with dry chloroform (15 ml) to give a yellow suspension. The
mixture was stirred at room temperature and phosphorus pentachloride (2.19
g, 10.5 mmol) was added portionwise. The reaction mixture was heated to
25 reflux for 1.5 h to give a green solution. The mixture was cooled to room
temperature and diluted with hexane (15 ml). A green precipitate formed, was

collected by filtration and dried under vacuum. The title compound was isolated as a green powder (645 mg, 2.63 mmol, 53%).

Step 3: Preparation of methyl 4-hydroxycinnoline-3-carboxylate

5

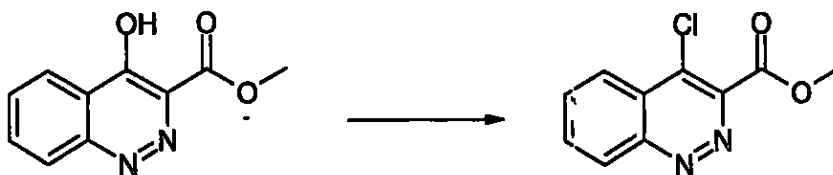


(Phenylhydrazono)malonoyl dichloride (2.45 g, 0.01 mmol) was mixed under inert atmosphere with 1,2-dichloroethane (15 ml) to give a yellow suspension.

- 10 Titanium tetrachloride (1.89 g, 1.09 ml) was added dropwise to form a brown solution. The mixture was heated to reflux overnight, cooled to room temperature and quenched dropwise with methanol (15 ml). Stirring was continued for 30 min and volatiles were removed under vacuum. Water (100 ml) was added and the obtained suspension was extracted with *n*-butanol (2 x 50 ml). The combined organic phases were washed with water (2 x 20 ml) and concentrated under vacuum. The title compound was isolated as a green solid
- 15 (1.04 g, 5.10 mmol, 51%). LCMS: m/z 205 $[M+H]^+$.

20

Step 4: Preparation of methyl 4-chlorocinnoline-3-carboxylate:

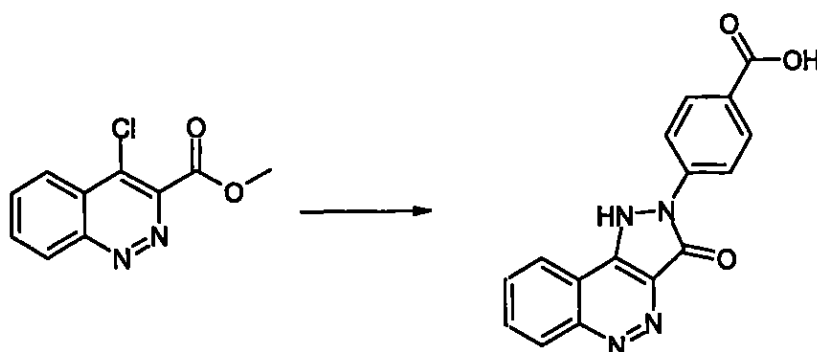


25

Thionyl chloride (8.15 g, 5 ml) was added dropwise under inert atmosphere to methyl 4-hydroxycinnoline-3-carboxylate (0.50 g, 2.45 mmol). The mixture

was heated to reflux for 1.5 h, cooled to room temperature and excess thionyl chloride was removed under vacuum. Toluene (5 ml) was added to the residue. The mixture was stirred at room temperature overnight. The solids were collected by filtration and dried under vacuum. The title compound was isolated as a brown solid (248 mg, 1.11 mmol, 45%). LCMS: m/z 223 $[M+H]^+$.

Step 5: Preparation of 4-(3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoic acid:



10

4-Hydrazinobenzoic acid (68.4 mg, 0.45 mmol) was mixed at room temperature with ethanol (5 ml) to give a crème-coloured suspension. Methyl 4-chlorocinnoline-3-carboxylate (100 mg, 0.45 mmol) was added and the mixture was heated to 45-50°C for 1 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and the solvent was removed under vacuum. Ethyl acetate (10 ml) was added to the residue. The mixture was stirred at room temperature for 1 h. The solids were collected by filtration and dried under vacuum. The title compound was isolated as a brown powder (120 mg, 0.39 mmol, 86%). LCMS: m/z 307 $[M+H]^+$. NMR $[DMSO-d_6]$: δ = 7.69-7.77 (m, 1 H_{aryl}); 7.81-7.90 (m, 2 H_{aryl}); 8.05 (d, J = 8.85, 2 H_{aryl}); 8.20 (d, J = 7.92 Hz, 1 H_{aryl}); 8.33 (d, J = 8.85 Hz, 2 H_{aryl}); 14.64 (s, NH).

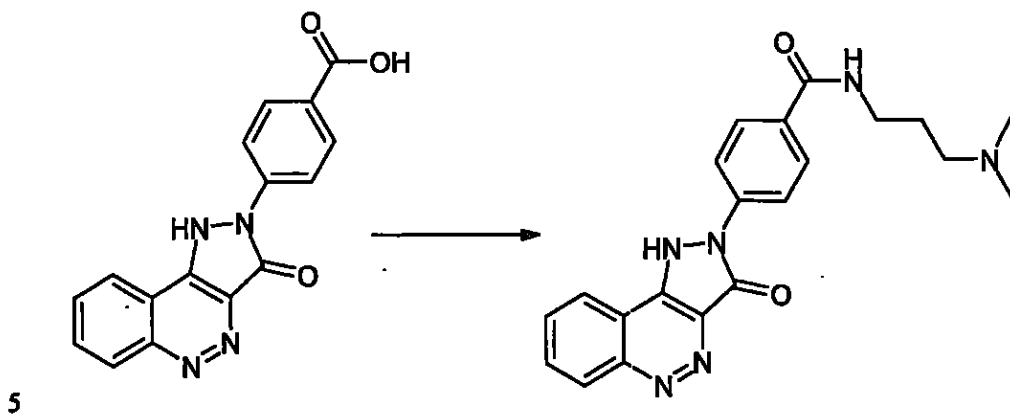
20

Alternatively the reaction may be carried out at room temperature. In this case, a longer reaction time of 2-3 h may be required.

25

Example 2

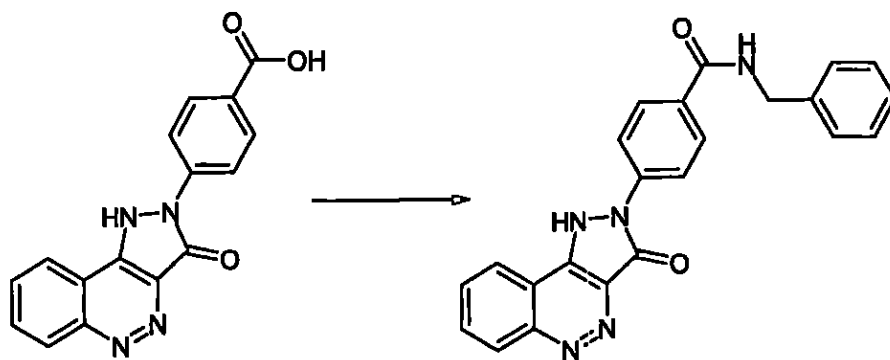
Preparation of *N*-[(dimethylamino)propyl]-4-(3-oxo-1,3-dihydro-2*H*-pyrazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-yl)benzamide:



- 4-(3-oxo-1,3-dihydro-2*H*-pyrazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-yl)benzoic acid (25 mg, 0.08 mmol) was mixed with DMF (1 ml). Diisopropylethylamine (21 mg, 28 μ l, 0.16 mmol) and 3-dimethylaminopropylamine (8.2 mg, 10.0 μ l, 0.09 mmol) were added followed by HBTU (30.3 mg, 0.08 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 2 h. The product was purified by preparative HPLC. The title compound was isolated as a red solid (12.6 mg, 0.032 mmol, 40%). LCMS: m/z 391 $[M+H]^+$.
- 10

Example 3

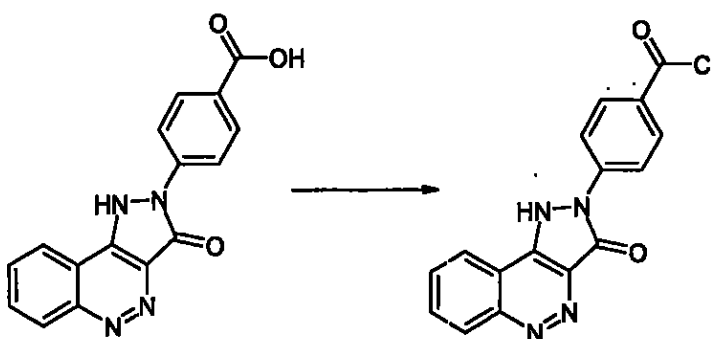
- 15 Preparation of *N*-benzyl-4-(3-oxo-1,3-dihydro-2*H*-pyrazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-yl)benzamide:



- 4-(3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoic acid (52 mg, 0.17 mmol) was mixed with DMF (2 ml). Diisopropylethylamine (22 mg, 29 μ l, 0.17 mmol) and benzylamine (18.2 mg, 18.6 μ l, 0.17 mmol) were added followed by HBTU (64.5 mg, 0.17 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 4 h. The product was purified by preparative HPLC. The title compound was isolated as a red solid (6.6 mg, 0.02 mmol, 10%). LCMS: m/z 396 $[M+H]^+$.

Example 4

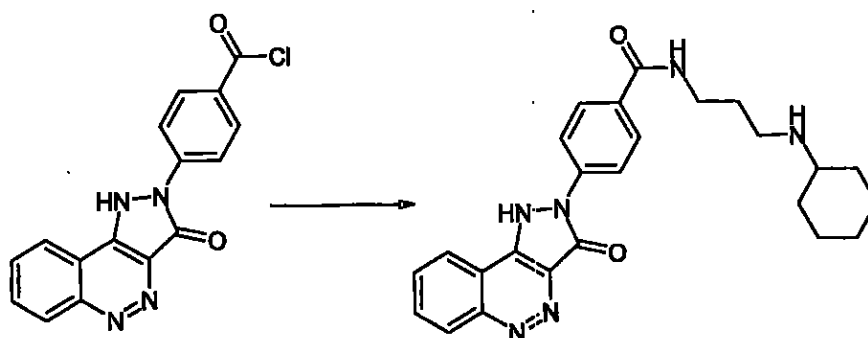
- Step 1: Preparation of 4-(3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoyl chloride:



- Thionyl chloride (90 ml) was added to 4-(3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo-[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoic acid (2.36 g, 7.70 mmol). The mixture was heated to reflux for 2 h under nitrogen atmosphere. A dark red solution was obtained, cooled to room temperature and excess thionyl chloride was removed under vacuum. Toluene (30 ml) was added to the residues and the mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere until precipitation was complete. The solids were collected by filtration and washed with toluene (2 x 30 ml). The title compound was isolated as a red solid (2.20 g, 6.77 mmol, 88%) LCMS: m/z 321 $[M+H]^+$ (methyl ester resulting from sample make-up in methanol).

26

Step 2: Preparation of *N*-[(cyclohexylamino)propyl]-4-(3-oxo-1,3-dihydro-2*H*-pyrazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-yl)benzamide:



5

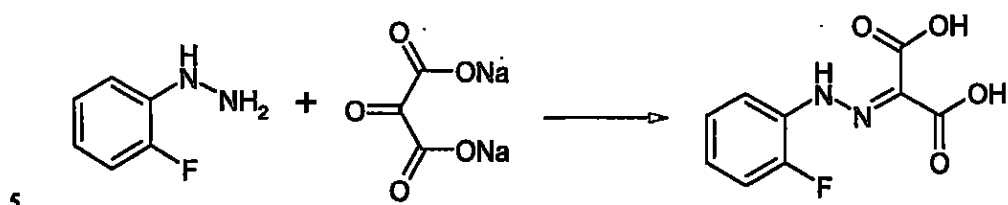
4-(3-oxo-1,3-dihydro-2*H*-pyrazolo[4,3-*c*]cinnolin-2-yl)benzoyl chloride (97 mg, 0.30 mmol) was dissolved in anhydrous DMA (2 ml). Diisopropylethylamine (39 mg, 53 μ l, 0.60 mmol) was added followed by *N*-cyclohexyl-1,3-propanediamine (52 mg, 0.60 mmol). The mixture was stirred for 30 min. Water (5 ml) was added to give a dark red suspension. The mixture was extracted with *n*-butanol (2 x 20 ml). The combined organic phases were washed with water and concentrated under vacuum until precipitation was observed. Hexane (20 ml) and ethyl acetate (10 ml) were added, the solids were collected by filtration and dried under vacuum. The product was isolated as a dark red powder (82 mg, 0.18 mmol, 62%). LCMS: m/z 445 $[M+H]^+$.

10

15

Example 5:

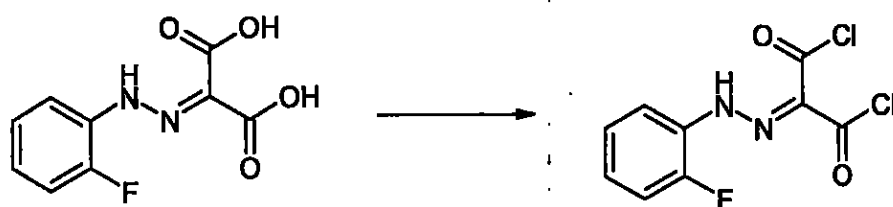
Step 1: Preparation of [(2-Fluorophenyl)hydrazono]malonic acid:



Sodium mesoxalate monohydrate (2.21 g, 12.3 mmol) was dissolved in 1 M hydrochloric acid (50 ml) to give a colourless cloudy solution. 2-Fluorophenylhydrazine hydrochloride (2.00 g, 12.3 mmol) was added portionwise at room temperature to the stirred mixture. A yellow precipitate formed, the mixture was diluted with water (50 ml) and stirring continued overnight. Ethyl acetate (150 ml) was added, the phases were mixed vigorously until the solids had dissolved. The phases were separated and the aqueous phase was washed with ethyl acetate (50 ml). The combined organic phases were dried over magnesium sulfate, filtered and the solvent removed under vacuum. The title compound was isolated as a yellow powder (2.55 g, 11.7 mmol, 92%). LCMS: m/z 227 $[M-H]^+$.

20

Step 2: Preparation of [(2-Fluorophenyl)hydrazono]malonoyl dichloride:

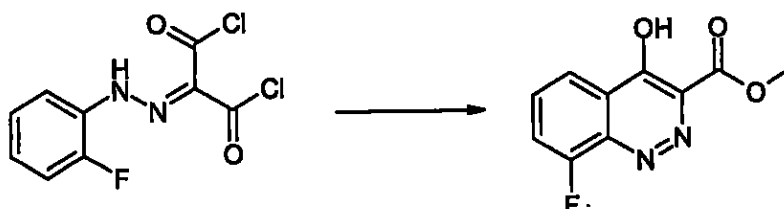


(2-Fluorophenylhydrazono)malonic acid (1.33 g, 5.88 mmol) was mixed under inert atmosphere with dry chloroform (20 ml) to give a yellow suspension. The mixture was stirred at room temperature and phosphorus pentachloride (2.69 g, 12.9 mmol) was added portionwise. The reaction mixture was heated to reflux for 2 h to give a dark yellow solution. The mixture was cooled to room temperature and concentrated under vacuum until precipitation occurred. The solids were collected by filtration, washed with hexane (30 ml) and dried under vacuum. The title compound was isolated as a yellow powder (760 mg, 2.89 mmol, 49%).

10

Step 3: Preparation of methyl 8-fluoro-4-hydroxycinnoline-3-carboxylate:

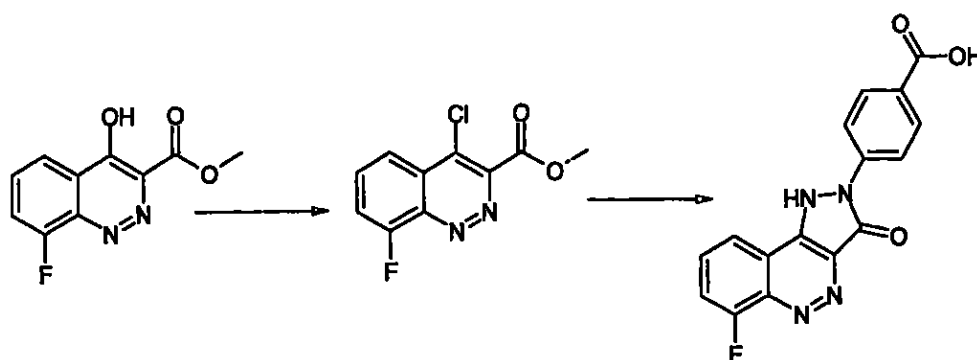
15



(2-Fluorophenylhydrazono)malonoyl dichloride (19.4 g, 74 mmol) was mixed under inert atmosphere with 1,2-dichloroethane (100 ml) to give a yellow suspension. Titanium tetrachloride (13.9 g, 8.08 ml, 74 mmol) was added dropwise to form a brown solution. The mixture was heated to reflux overnight. Further titanium tetrachloride (13.9 g, 8.08 ml, 74 mmol) was added and heating continued for 24 h. The reaction mixture was cooled to 0-5°C and quenched dropwise with methanol (50 ml). Stirring was continued for 1 h at room temperature and volatiles were removed under vacuum. Water (300 ml) was added and the obtained suspension was extracted with ethyl acetate (3 x 100 ml). The combined organic phases were dried over magnesium sulphate, filtered and concentrated under vacuum. A yellow solid was obtained (12 g crude product). LCMS: m/z 223 [M+H]⁺.

30

Step 4: Preparation of 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoic acid:



Crude 8-Fluoro-4-hydroxycinnoline-3-carboxylate from the previous stage (1.00 g, 4.95 mmol) was dissolved in thionyl chloride (50 ml). The solution was heated to reflux for 2-3 h until no further gas evolution was observed. The reaction mixture was cooled to room temperature and excess thionyl chloride was removed under vacuum. The crude intermediate was azeotroped with toluene (3 x 25 ml). A dark brown solid was obtained, which was taken up in ethanol (25 ml). 4-Hydrazinobenzoic acid (640 mg, 4.21 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature overnight. The solids were collected by filtration, slurried in 1 M HCl (100 ml), filtered, washed with hexane (50 ml) and dried under vacuum. A brown solid was obtained (890 mg of crude product). LCMS: m/z $[M+H]^+$ 325.

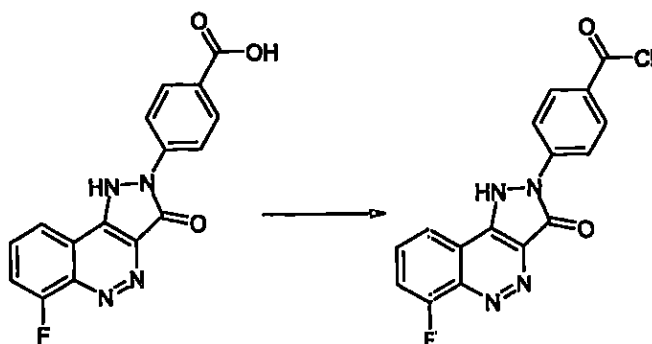
10

15

20

Example 6

Step 1: Preparation of 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoic acid chloride:

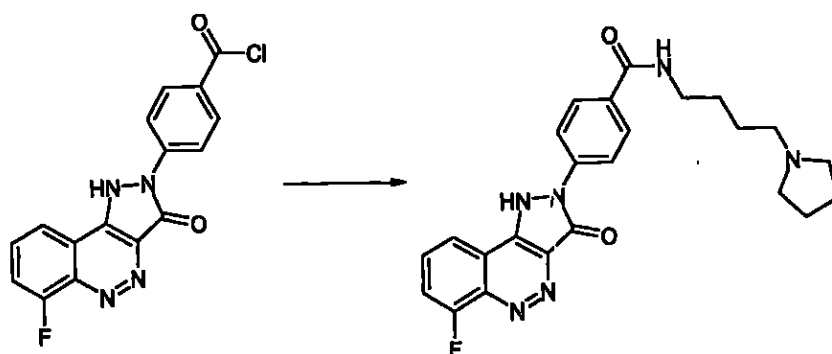


Crude 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-benzoic acid (1.45 g) from the previous stage was dissolved in thionyl chloride (50 ml).

- 5 The mixture was heated to 70°C for 2-3 h until no further gas evolution was observed. The mixture was cooled to room temperature and excess thionyl chloride was removed under vacuum. The residues were azeotroped with toluene (2 x 20 ml) to give a solid. The solid was collected by filtration, washed with toluene and dried under vacuum. The product was isolated as a
- 10 yellow powder (670 mg, 1.95 mmol). LCMS: m/z $[M+H]^+$ 339 (methyl ester resulting from sample make-up in methanol).

Step 2: Preparation of 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-N-(pyrrolidin-1-yl-butyl)benzamide:

15

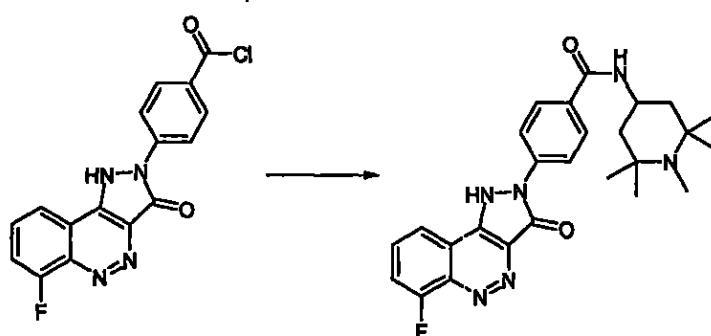


4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoyl chloride (100 mg, 0.29 mmol) was dissolved in anhydrous DMA (2 ml).

Diisopropylethylamine (75 mg, 101 μ l, 0.58 mmol) was added followed by 1-(4-aminobutyl)pyrrolidine (41 mg). The mixture was stirred at room temperature overnight. Water (5 ml) and n-butanol (5 ml) were added. The phases were separated. The organic phase was washed with water (2 x 5 ml). The volatiles were removed under vacuum. The product was isolated as a brown powder (50 mg, 0.11 mmol, 37%). LCMS: m/z $[M+H]^+$ 463.

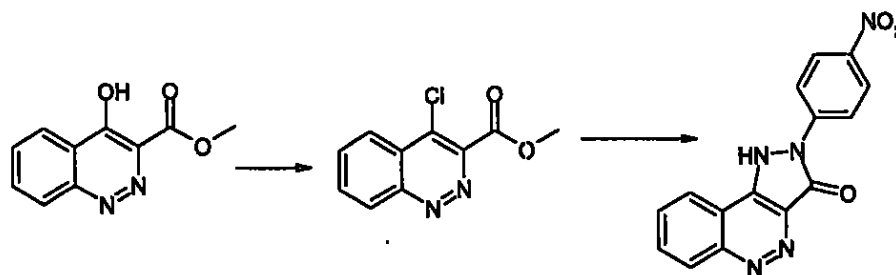
Example 7

Preparation of 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-N-(1,2,2,6,6-pentamethylpiperidine-4-yl)benzamide:



4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoyl chloride (100 mg, 0.29 mmol) was dissolved in anhydrous DMA (2 ml).

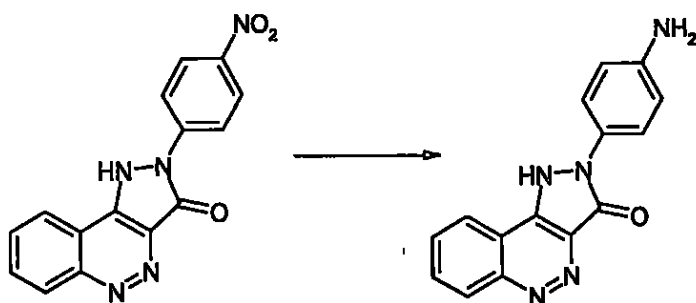
Diisopropylethylamine (75 mg, 101 μ l, 0.58 mmol) was added followed by 4-amino-1,2,2,6,6-pentamethylpiperidine (49 mg, 0.29 mmol). The mixture was stirred overnight. Water (5 ml) and n-butanol (5 ml) were added. The phases were separated. The organic phase was washed with water (2 x 5 ml) and the solution was concentrated under vacuum. The title compound was isolated as a dark red solid (50 mg, 0.105 mmol, 36%). LCMS: m/z $[M+H]^+$ 477.

Example 8**Step 1: Preparation of 2-(4-nitrophenyl)-1,2-dihydro-3H-pyrazolo [4,3-c] cinnolin-3-one**

5

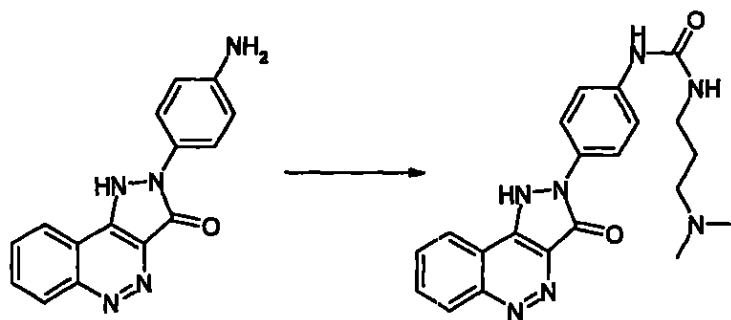
Thionyl chloride (326 g, 200 ml) was added dropwise under inert atmosphere to methyl 4-hydroxycinnoline-3-carboxylate (10.0 g, 49 mmol). The mixture was heated to reflux for 2.5 h, cooled to room temperature and excess thionyl chloride was removed under vacuum. Toluene (100 ml) was added to the residue and removed under vacuum. This procedure was repeated with further toluene (100 ml). A brown semi-solid material was obtained and taken up in ethanol (200 ml). 4-Nitrophenylhydrazine (5.99 g, 39.2 mmol) was added portionwise. The mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was heated to 40-45°C for 1 h and cooled to room temperature. The solids were collected by filtration, triturated with ethanol (100 ml) and dried under vacuum. The title compound was isolated as a brown solid (8.42 g, 27.4 mmol, 70%). LCMS: m/z 308 $[M+H]^+$.

20 **Step 2: Preparation of 2-(4-aminophenyl)-1,2-dihydro-3H-pyrazolo [4,3-c] cinnolin-3-one**



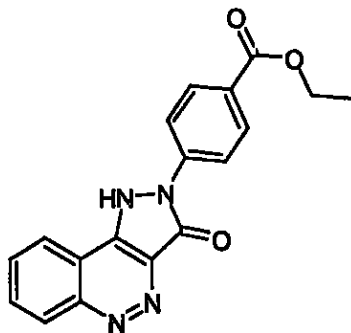
2-(4-nitrophenyl)-1,2-dihydro-3H-pyrazolo [4,3-c] cinnolin-3-one (11.4 g, 37.2 mmol) was suspended in a mixture of ethanol (100 ml) and water (100 ml).
5 Iron powder (11.1 g, 200 mmol) and ammonium chloride (5.34 g, 100 mmol) were added. The mixture was heated to 80°C overnight, cooled to room temperature and basified with potassium carbonate to pH 9-10. The solids were removed by filtration through a pad of Celite®. The filtrate was extracted with *n*-butanol (2 x 200 ml). The combined organic phases were concentrated under vacuum to give a dark red solid. The solid was triturated with methanol
10 (100 ml), filtered and dried under vacuum. The title compound was isolated as a dark red powder (5.58g, 20.1 mmol, 57%). LCMS: *m/z* 278 [M+H]⁺.

Step 3: Preparation of *N*-[3-(dimethylamino)propyl]-*N'*-[4-(3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo [4,3-c]cinnolin-2-yl) phenyl]urea
15



20 2-(4-aminophenyl)-1,2-dihydro-3H-pyrazolo [4,3-c] cinnolin-3-one (44 mg, 0.16 mmol) was suspended in toluene under nitrogen atmosphere (0.5 ml) at 0-5°C. DMA (0.5 ml) was added followed by *N,N'*-carbonyldiimidazole (26 mg, 0.16 mmol). The mixture was stirred for 1 h at 0-5°C before mixed with a solution of 3-dimethylaminopropylamine (18 mg, 0.18 mmol) in toluene (0.5
25 ml). Stirring was continued for 1 h and the product was purified by preparative HPLC. The title compound was isolated as a dark red powder (2.6 mg, 6 μmol, 4%). LCMS: *m/z* 406 [M+H]⁺.

Example 9: Preparation of 4-(3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)benzoic acid ethyl ester.



- 5 The title compound was prepared by the method of Example 1 step 5, substituting 4-hydrazinobenzoic acid ethyl ester for the parent acid. MS: MH⁺ = 335.2

Results

10

The use of BIAcore biomolecular interaction analysis

- 15 Biotinylated human CD80 (hCD80-BT) is a recombinant soluble form of a membrane bound receptor molecule (CD80) which binds to CD28 to initiate T cell activation. The interaction between CD80 and CD28 has been extensively investigated (Collins et al, 2002). Biotinylated human HLA-A2-tax is the recombinant soluble form of a membrane bound receptor molecule that has been used in this example as a control protein, and is not expected to interact with the compounds.

- 20 The BIAcore S51TM system was used for screening the compounds of Examples 1-4 above. A series S sensor chip CM5 was docked onto the BIAcore S51TM. Streptavidin was coupled to the carboxymethyl surface using standard amine coupling. The chip surface was activated with 0.2M EDC / 0.05M NHS, followed by binding of streptavidin (0.25 mg/ml in 10 mM sodium acetate pH 5.0) and saturation of unoccupied sites with 1 M ethylenediamine.
- 25

The BIAcore S51 sensor chip has two separate sensor spots for immobilisation of proteins. hCD80-BT was immobilised on the streptavidin-coated surface of one sensor spot until a response of approximately 3000 RU was observed. A protein to control for non-specific binding of the compound was immobilised on a second sensor spot. The control protein used for these experiments was a biotinylated, soluble form of the human HLA protein.

Dilution series of compounds (1000nM – 0.05nM) were prepared in running buffer (10 mM, pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.005% P20; 5% DMSO).

10

BIAcore S51TM was run at a flow rate of 30 μ l/min using running buffer. Compounds and DMSO standard solutions for correction of data for solvent effects were injected. Data were recorded automatically and were analysed using BIAcore S51 Evaluation software.

15

The interaction between CD80 and the endogenous protein ligand (CD28) is highly specific, but relatively weak, with a K_D of 4750 nM, and an off-rate of greater than 0.2 s^{-1} . The compounds of Examples 2,3,4,6,7 have greater affinity and longer residence times on CD80 than CD28, having K_D s of less than 100nM, and off-rates of 2×10^{-2} , indicating that the cinnolines will be able to compete effectively with the endogenous ligand. The cinnolines showed no detectable interaction with the control protein.

20

References

25

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

30 **Inhibition of production of Interleukin-2 (IL-2) by human Jurkat T cells.**

Method

Human Raji cells were dispensed at a concentration of 2×10^5 cells per well in RPMI-1640 medium supplemented with 10% fetal calf serum, 1%

- penicillin/streptomycin, 1% glutamine (RPMI medium) in a 96-well round bottom microtitre plate. Compounds under investigation (dissolved in 100% DMSO) were diluted to eight-fold the desired final concentration in RPMI medium and added to the required final concentration for a total volume of
- 5 200µl per well. After 20 minutes incubation at 37°C, Jurkat T cells were added at a concentration of 2×10^5 cells per well. Monoclonal antibody to CD3 (UCHT1, R&D Systems) was added to the cultures at a final concentration of 1µg per ml, and where indicated, monoclonal antibody to CD28 (CD28.2, BD-Pharmingen) was also added at a concentration of 2.5µg per ml. Cells were
- 10 cultured at 37°C for 5 hours, after which the plates were centrifuged and the supernatants harvested for IL-2 ELISA assay using the IL-2 Eli-pair kit (DIACLONE Research, Besancon, France) according to the manufacturers instructions.
- 15 By way of example, the compound of Example 2 (AV1142005) gave 65% inhibition at 30µM.

Homogenous Time Resolved Fluorescence Assay

- The examples described above were tested in a cell free Homogenous Time
- 20 Resolved Fluorescence (HTRF) assay to determine their activity as inhibitors of the CD80-CD28 interaction.

- In the assay, europium and allophycocyanin (APC) are associated with CD28 and CD80 indirectly (through antibody linkers) to form a complex, which brings
- 25 the europium and APC into close proximity to generate a signal. The complex comprises the following six proteins: fluorescent label 1, linker antibody 1, CD28 fusion protein, CD80 fusion protein, linker antibody 2, and fluorescent label 2. The table below describes these reagents in greater detail.

Fluorescent label 1	Anti-Rabbit IgG labelled with Europium (1µg/ml)
Linker antibody 1	Rabbit IgG specific for mouse Fc fragment (3µg/ml)
CD28 fusion protein	CD28 - mouse Fc fragment fusion protein (0.48µg/ml)

CD80 fusion protein	CD80 mouse Fab fragment (C215) fusion protein (1.9µg/ml)
Linker antibody 2	GαMκ-biotin: biotinylated goat IgG specific for mouse kappa chain (2µg/ml)
Fluorescent label 2	SA-APC: streptavidin labelled allophycocyanin (8µg/ml)

On formation of the complex, europium and APC are brought into proximity and a signal is generated.

5 Non-specific interaction was measured by substituting a mouse Fab fragment (C215) for the CD80 mouse Fab fragment fusion protein (1.9µg/ml). The assay was carried out in black 384 well plates in a final volume of 30µl. Assay buffer: 50mM Tris-HCl, 150mM NaCl pH7.8, containing 0.1% BSA (w/v) added just prior to use.

10

Compounds were added to the above reagents in a concentration series ranging between 100µM – 1.7nM. The reaction was incubated for 4 hours at room temperature. Dual measurements were made using a Wallac Victor 1420 Multilabel Counter. First measurement: excitation 340nm, emission 665nm, delay 50µs, window time 200µs. second measurement: excitation 340nm, emission 615nm, delay 50µs, window time 200µs. Counts were automatically corrected for fluorescence crossover, quenching and background. The EC50 activities of compounds tested are recorded as:

15

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

20

The compounds of Examples 1 – 8 had the following activities in the HTRF assay described above:

- Example 1 *
- Example 2 ***
- Example 3 ***
- Example 4 ***
- Example 5 *
- Example 6 ***

25

Example 7 ***

Example 8 ***

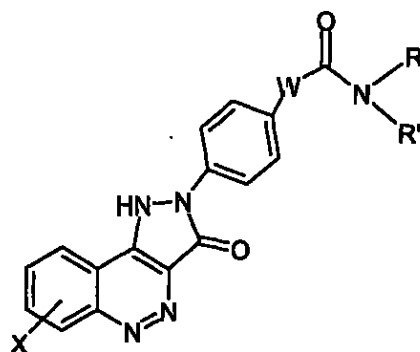
Example 9 **

5 **Additional Examples**

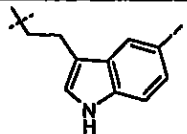
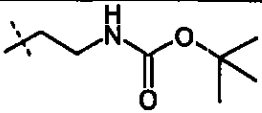
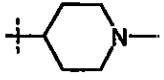
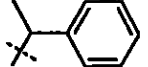
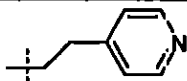
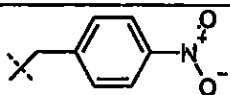
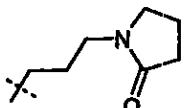
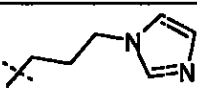
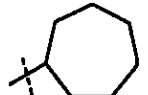
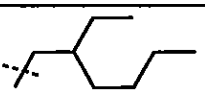
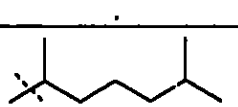
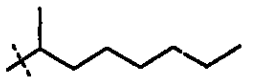
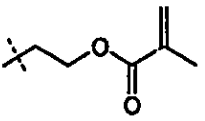
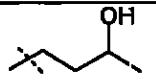
Further examples of compounds of the invention were synthesised by methods analogous to those of Examples 1 -- 8 above. The structures of the synthesised compounds are shown in the following Table, together with their activities in the HTRF assay described above.

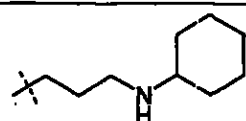
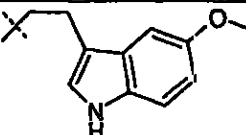
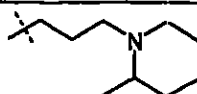
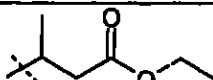
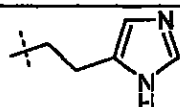
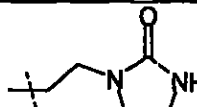
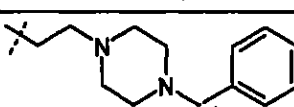
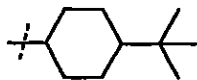
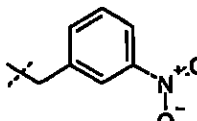
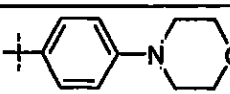
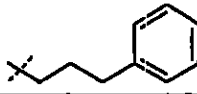
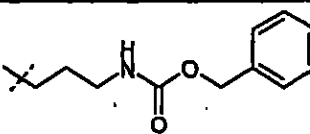
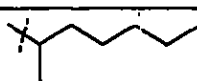
10

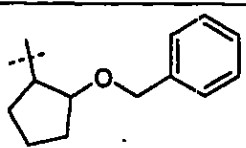
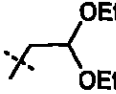
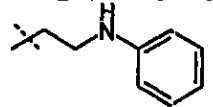
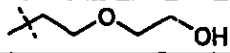
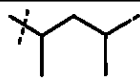
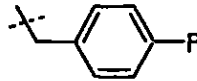
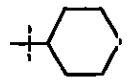
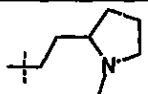
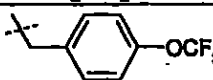
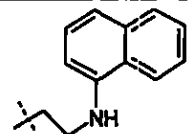
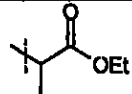
Table

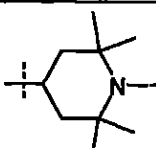
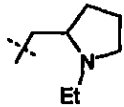
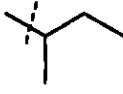
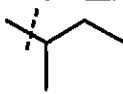
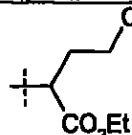
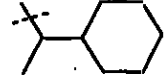
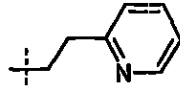
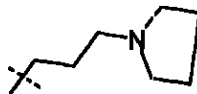
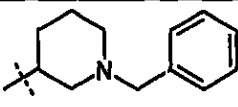
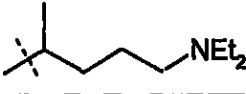
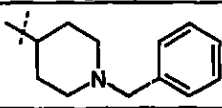


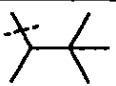
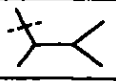
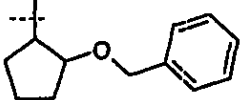
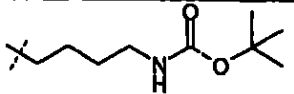
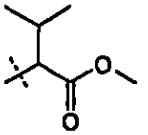
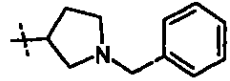
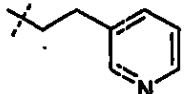
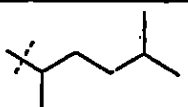
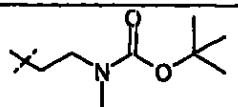
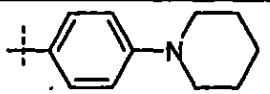
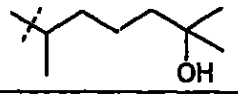
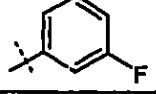
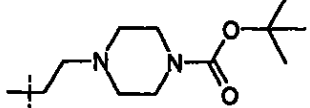
Exa- mple No.	X	W	R	R'	MS MH+	Activity
9a.	H	-	CH ₂ CH ₂ OMe	H	364.2	**
10.	H	-		H	446.2	***
11.	H	-	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	377.1	***
12.	H	-		H	419.1	***
13.	H	-		H	433.1	***
14.	H	-		H	442.0	*
15.	H	-	Ph	H	382.0	**

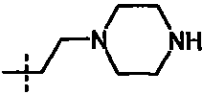
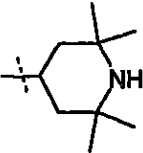
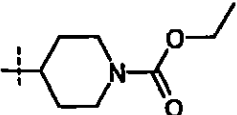
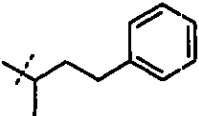
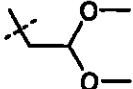
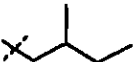
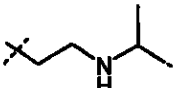
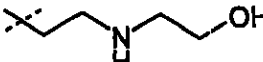
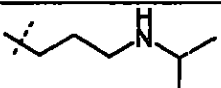
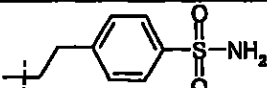
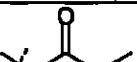
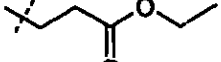
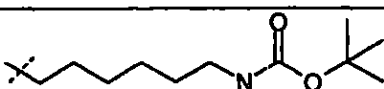
16.	H	-		H	463.0	*
17.	H	-		H	448.8	**
18.	H	-		H	403.1	***
19.	H	-		H	410.0	*
20.	H	-		H	411.0	***
21.	H	-		H	441.2	**
22.	H	-		H	431.1	**
23.	H	-		H	414.1	***
24.	H	-		H	402.2	**
25.	H	-		H	418.4	*
26.	H	-		H	418.2	***
27.	H	-		H	418.2	*
28.	H	-		H	417.9	**
29.	H	-		H	378.0	***

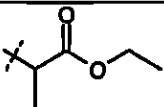
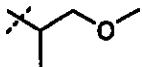
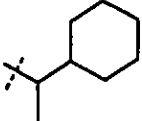
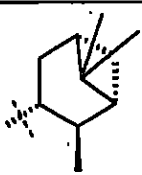
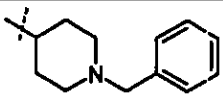
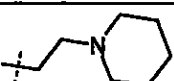
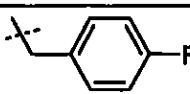
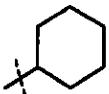
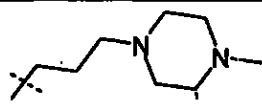
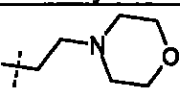
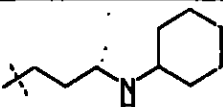
30.	H	-		H	445.2	***
31.	H	-		H	479.0	**
32.	H	-		H	445.2	***
33.	H	-		H	376.2	**
34.	H	-		H	420.0	**
35.	H	-		H	400.0	**
36.	H	-		H	418.0	*
37.	H	-		H	508.1	***
38.	H	-		H	444.2	*
39.	H	-		H	441.1	**
40.	H	-		H	467.2	**
41.	H	-		H	424.1	**
42.	H	-		H	496.9	**
43.	H	-		H	404.1	**

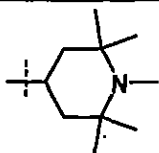
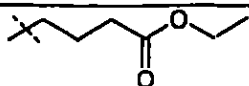
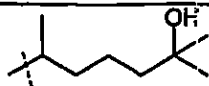
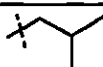
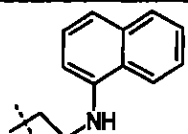
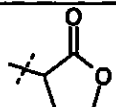
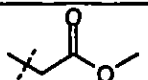
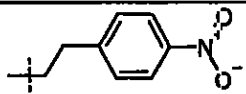
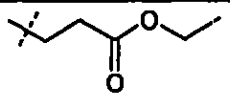
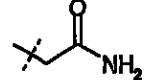
44.	H	-		H	480.0	*
45.	H	-		H	421.8	**
46.	H	-	Et	H	334.2	***
47.	H	-		H	425.0	***
48.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	363.0	***
49.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	377.1	***
50.	H	-		H	394.2	**
51.	H	-	CH ₂ CH ₂ OH	H	350.2	***
52.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	377.2	***
53.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OiPr	H	406.2	***
54.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	377.2	***
55.	H	-		H	390.2	***
56.	H	-		H	414.1	**
57.	H	-		H	388.2	**
58.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	475.2	***
59.	H	-	cyclododecyl	H	472.2	*
60.	H	-	CH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	405.1	***
61.	H	-		H	417.2	***
62.	H	-		H	402.2	**
63.	H	-	CH ₂ CH ₂ OPh	H	426.0	**
64.	H	-		H	480.2	**
65.	H	-		H	475.2	**
66.	H	-		H	406.1	**

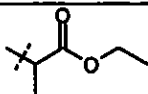
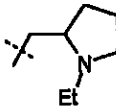
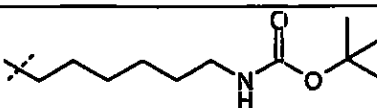
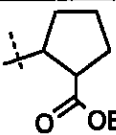
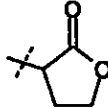
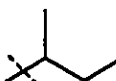
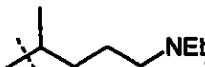
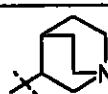
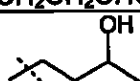
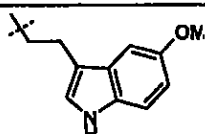
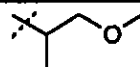
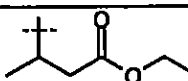
67.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OnBu}$	H	420.0	***
68.	H	-		H	459.3	***
69.	H	-		H	417.3	***
70.	H	-	 (R isomer)	H	362.3	***
71.	H	-	 (S isomer)	H	362.3	***
72.	H	-	$\text{CH}(\text{Et})_2$	H	376.3	**
73.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$	H	438.4	**
74.	H	-		H	492.2	**
75.	H	-		H	416.3	**
76.	H	-		H	411.2	**
77.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SEt}$	H	394.2	***
78.	H	-	Cyclopropyl	H	346.2	**
79.	H	-		H	417.3	***
80.	H	-		H	479.3	***
81.	H	-		H	447.2	***
82.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$	H	376.2	**
83.	H	-	cyclopentyl	H	374.2	**
84.	H	-	nPropyl	H	348.2	**
85.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{tBu}$	H	390.3	**
86.	H	-		H	479.3	***
87.	H	-	$\text{CH}_2\text{cycloheptyl}$	H	416.4	*

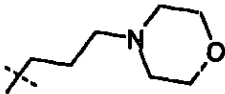
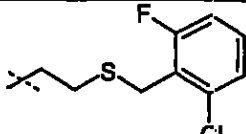
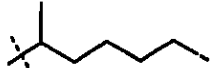
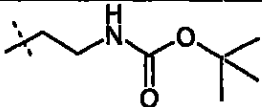
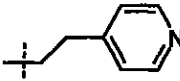
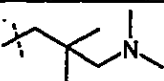
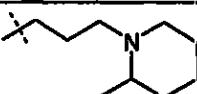
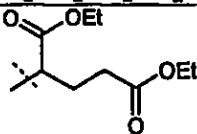
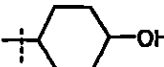
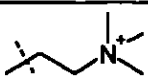
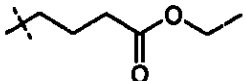
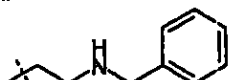
88.	H	-		H	390.3	**
89.	H	-		H	376.3	***
90.	H	-		H	480.2	**
91.	H	-		H	477.1	***
92.	H	-		H	432.4	*
93.	H	-		H	420.1	**
94.	H	-		H	465.3	***
95.	H	-		H	411.4	***
96.	H	-		H	404.3	**
97.	H	-		H	463.0	**
98.	H	-		H	465.4	**
99.	H	-		H	434.4	**
100.	H	-		H	400.3	*
101.	H	-		H	518.4	***

102.	H	-		H	418.4	**
103.	H	-		H	445.4	***
104.	H	-		H	461.4	**
105.	H	-		H	438.4	*
106.	H	-		H	394.3	**
107.	H	-		H	376.3	**
108.	H	-		H	391.4	***
109.	H	-		H	393.4	***
110.	H	-		H	405.5	***
111.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	364.4	**
112.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	392.4	***
113.	H	-	nHexyl	H	390.4	**
114.	H	-		H	489.4	**
115.	H	-		H	378.4	**
116.	H	-		H	406.4	*
117.	H	-		H	505.5	**

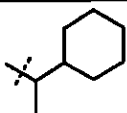
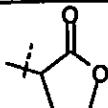
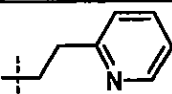
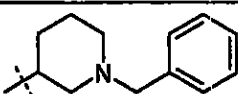
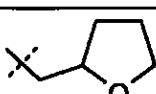
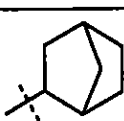
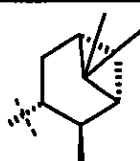
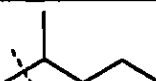
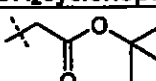
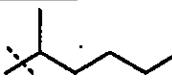
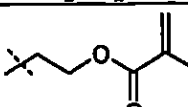
118.	H	-		H	406.4	**
119.	H	-		H	378.4	**
120.	H	-		H	416.4	**
121.	H	-		H	442.4	**
122.	H	-		H	442.4	*
123.	H	NH		H	494.3	**
124.	H	NH		H	405.3	*
125.	H	NH		H	432.3	**
126.	H	NH		H	429.3	*
127.	H	NH		H	403.3	*
128.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OEt	H	407.2	**
129.	H	NH		H	461.3	***
130.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	392.2	***
131.	H	NH	allyl	H	361.3	***
132.	H	NH		H	434.3	***
133.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OMe	H	393.2	**
134.	H	NH		H	460.3	***

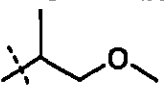
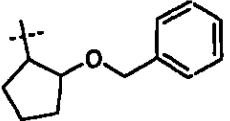
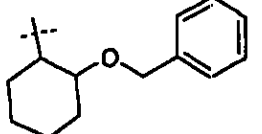
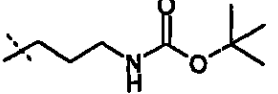
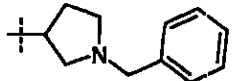
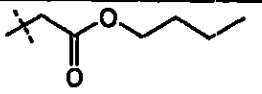
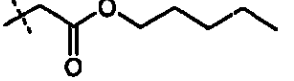
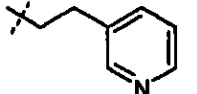
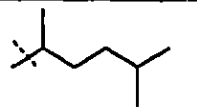
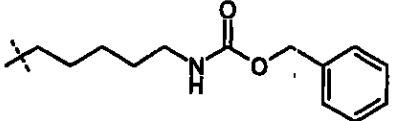
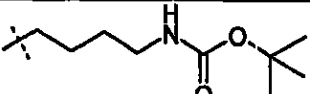
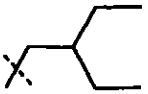
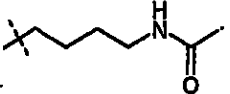
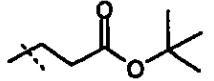
135.	H	NH		H	474.3	**
136.	H	NH		H	420.1	*
137.	H	NH		H	449.2	**
138.	H	NH		H	377.3	**
139.	H	NH	iPr	H	363.3	**
140.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OMe	H	379.3	**
141.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	406.2	***
142.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	378.2	***
143.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	392.2	***
144.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	406.2	***
145.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	H	409.2	***
146.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OH	H	365.2	***
147.	H	NH	CH ₂ CH ₂ Ph	H	425.3	**
148.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	420.2	***
149.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OiPr	H	421.2	**
150.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	379.2	***
151.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	407.2	**
152.	H	NH		H	490.1	*
153.	H	NH		H	405.3	**
154.	H	NH		H	393.1	**
155.	H	NH		H	470.3	**
156.	H	NH		H	421.2	**
157.	H	NH		H	378.1	**

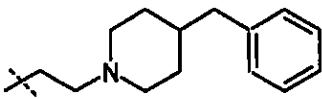
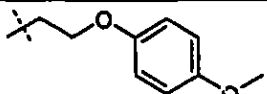
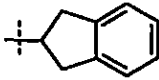
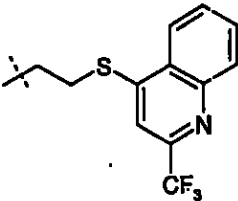
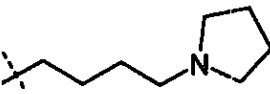
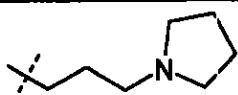
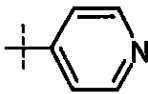
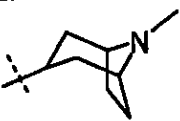
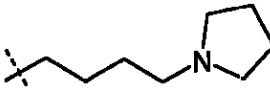
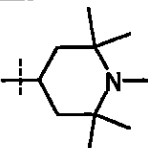
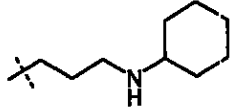
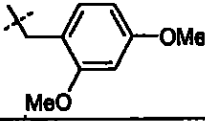
158.	H	NH		H	421.1	**
159.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OC ₁₂ H ₂₅	H	547.3	***
160.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OnBu	H	435.2	*
161.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ SM ₉	H	409.2	**
162.	H	NH		H	432.3	***
163.	H	NH		H	519.9	**
164.	H	NH		H	461.2	*
165.	H	NH		H	375.2	**
166.	H	NH		H	405.2	**
167.	H	NH		H	377.3	**
168.	H	NH		H	462.4	***
169.	H	NH		H	430.3	***
170.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CHO	H	377.2	*
171.	H	NH		H	393.3	***
172.	H	NH		H	494.3	**
173.	H	NH		H	391.3	**
174.	H	NH		H	393.2	**
175.	H	NH		H	435.2	**
176.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	419.4	***

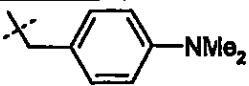
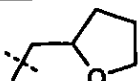
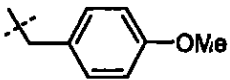
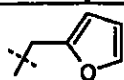
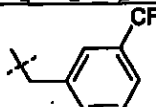
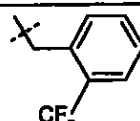
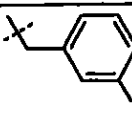
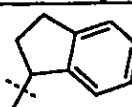
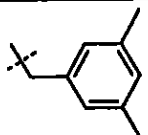
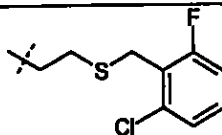
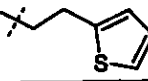
177.	H	NH	nBu	H	377.4	**
178.	H	NH	CH ₂ CH ₂ SMo	H	395.3	**
179.	H	NH		H	448.4	***
180.	H	NH		H	523.3	*
181.	H	NH		H	419.4	*
182.	H	NH		H	464.3	**
183.	H	NH		H	418.4	***
184.	H	NH		H	426.3	**
185.	H	NH		H	434.4	***
186.	H	NH		H	460.4	***
187.	H	NH	CH(Et) ₂	H	391.4	**
188.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph	H	453.4	*
189.	H	NH		H	507.5	**
190.	H	NH		H	419.4	**
191.	H	NH		H	406.4	??
192.	H	NH		H	435.4	*
193.	H	NH		H	454.5	***

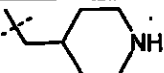
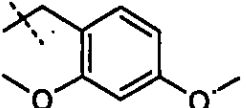
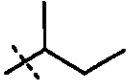
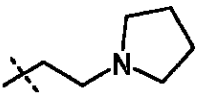
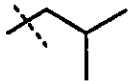
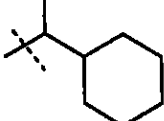
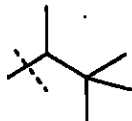
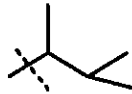
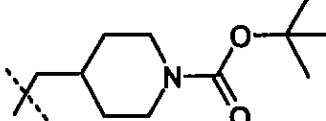
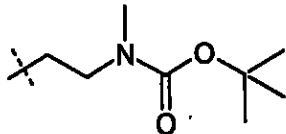
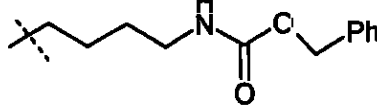
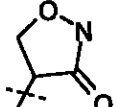
48
49

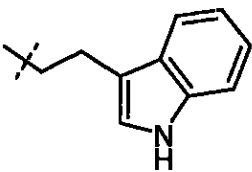
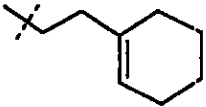
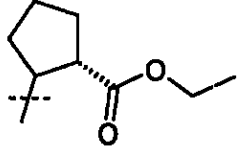
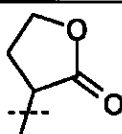
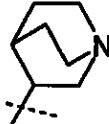
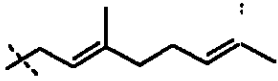
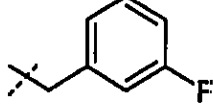
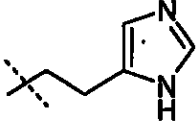
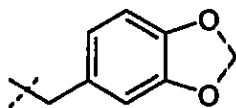
194.	H	NH		H	431.5	*
195.	H	NH		H	405.4	**
196.	H	NH		H	426.4	**
197.	H	NH		H	494.5	**
198.	H	NH		H	405.4	**
199.	H	NH		H	415.5	*
200.	H	NH	CH ₂ CH ₂ SCH ₂ Ph	H	471.4	*
201.	H	NH		H	457.5	*
202.	H	NH		H	457.4	*
203.	H	NH		H	391.4	*
204.	H	NH	CH ₂ cycloheptyl	H	431.5	*
205.	H	NH		H	435.4	*
206.	H	NH	CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	476.5	***
207.	H	NH		H	405.4	**
208.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OPh	H	441.4	**
209.	H	NH		H	433.4	*

210.	H	NH		H	393.4	***
211.	H	NH		H	495.5	*
212.	H	NH		H	509.4	*
213.	H	NH		H	478.5	**
214.	H	NH		H	480.4	***
215.	H	NH		H	435.4	*
216.	H	NH		H	449.4	*
217.	H	NH		H	426.4	**
218.	H	NH		H	419.5	*
219.	H	NH		H	540.5	**
220.	H	NH		H	492.5	*
221.	H	NH		H	405.5	*
222.	H	NH		H	434.4	***
223.	H	NH		H	449.4	**

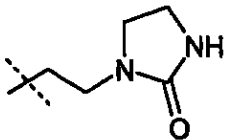
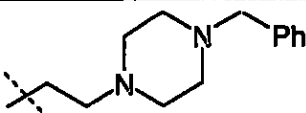
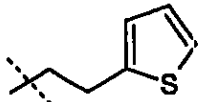
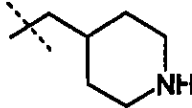
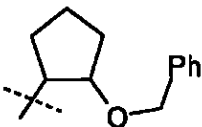
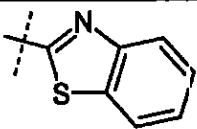
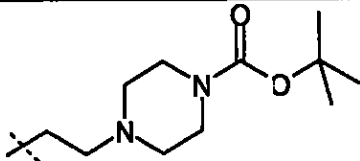
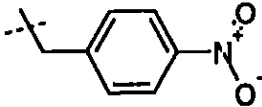
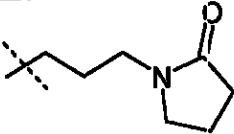
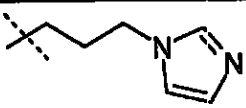
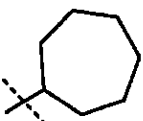
224.	H	NH		H	522.5	***
225.	H	NH		H	471.4	*
226.	H	NH		H	437.4	*
227.	H	NH		H	576.4	*
228.	H	NH		H	446.4	***
229.	H	NH		H	432.4	***
230.	H	NH		H	383.3	*
231.	H	NH		H	429.4	***
232.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	409.4	***
233.	6-F	-		H	449.4	***
234.	6-F	-		H	477.4	***
235.	6-F	-		H	463.4	***
236.	H	-		H	456.4	*

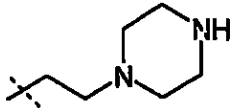
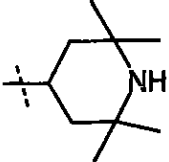
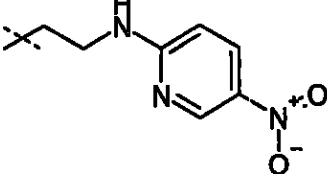
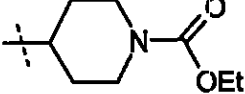
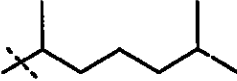
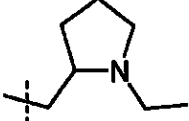
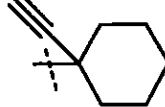
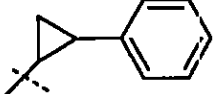
237.	H	-		H	439.4	***
238.	H	-		H	390.3	**
239.	H	-	cycloButyl	H	360.4	**
240.	H	-		H	426.4	***
241.	H	-	nButyl	H	362.4	**
242.	H	-		H	386.4	***
243.	H	-	IPr	H	348.4	***
244.	H	-		H	402.4	**
245.	H	-	nHeptyl	H	404.4	**
246.	H	-	Allyl	H	346.3	***
247.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OMe	H	378.4	***
248.	H	-		H	464.3	*
249.	H	-		H	464.3	*
250.	H	-		H	414.3	***
251.	H	-	nPentyl	H	376.4	*
252.	H	-		H	422.3	*
253.	H	-		H	442.3	*
254.	H	-		H	508.2	*
255.	H	-		H	416.3	*

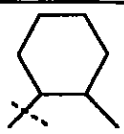
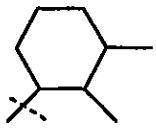
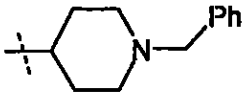
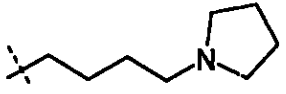
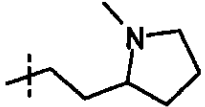
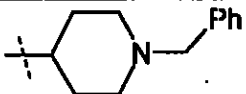
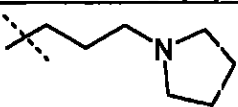
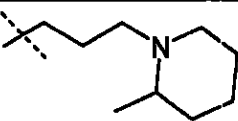
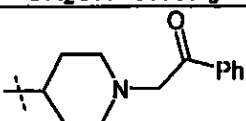
256.	H	~		H	403.4	**
257.	H	-		H	456.4	*
258.	H	-		H	362.3	**
259.	H	-		H		***
260.	H	-		H		**
261.	H	NH		H	431.5	*
262.	H	NH		H	405.4	*
263.	H	NH		H	391.4	**
264.	H	NH		H	518.5	*
265.	H	NH		H		*
266.	H	-		H	511.4	***
267.	H	-		H	391.4	**

268.	H	-		H	449.4	**
269.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	391.4	***
270.	H	-	CH ₂ CH ₂ Ph	H	410.4	*
271.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	405.4	***
272.	H	-		H	414.4	*
273.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OC ₁₂ H ₂₅	H	532.6	*
274.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ SCH ₃	H	394.4	***
275.	H	-		H	446.4	**
276.	H	-	CH(Et)CH ₂ OCH ₂ Ph	H	468.4	**
277.	H	-		H	390.3	**
278.	H	-		H	415.4	***
279.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHnBu	H	405.4	***
280.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	448.5	***
281.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ Ph	H	439.4	***
282.	H	NH	Et	H	349.4	***
283.	H	NH		H	457.4	*
284.	H	NH		H	429.3	*
285.	H	NH		H	415.3	***
286.	H	NH		H	455.3	*

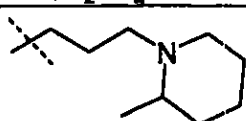
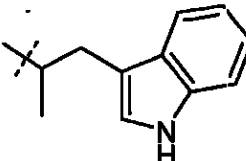
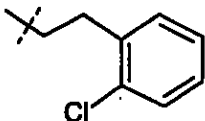
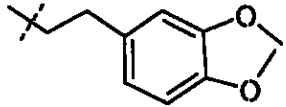
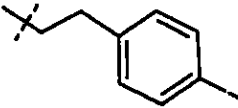
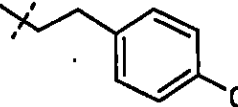
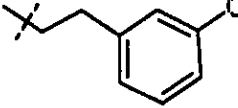
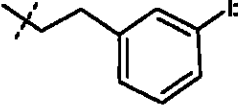
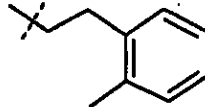
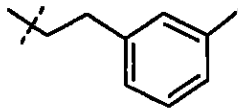
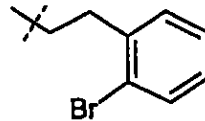
53

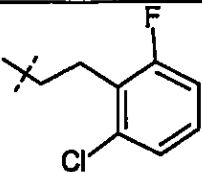
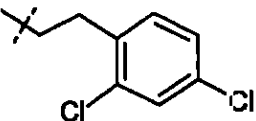
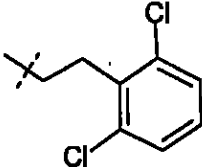
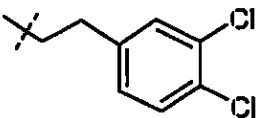
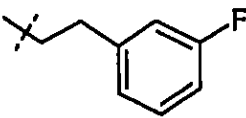
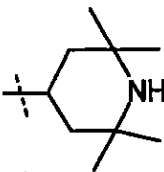
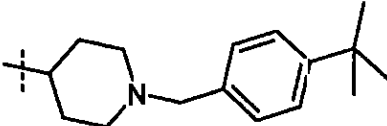
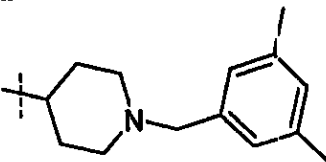
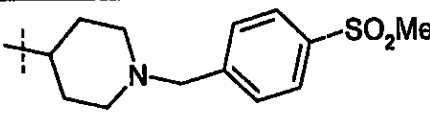
287.	H	NH		H	433.4	***
288.	H	NH		H	522.5	***
289.	H	NH		H	431.3	**
290.	H	NH		H	418.4	***
291.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph	H	439.4	*
292.	H	NH		H	495.4	*
293.	H	NH		H	454.3	*
294.	H	NH		H	533.5	**
295.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHCH ₃	H	392.4	***
296.	H	NH		H	456.4	*
297.	H	NH		H	446.4	**
298.	H	NH		H	429.4	***
299.	H	NH		H	417.5	*

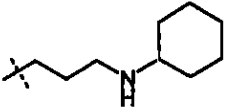
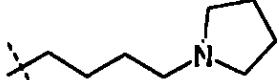
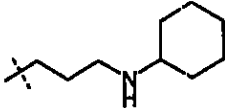
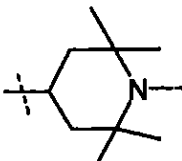
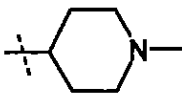
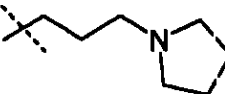
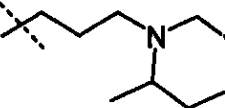
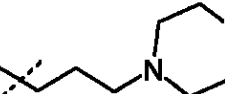
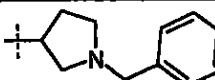
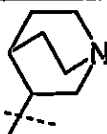
300.	H	NH		H	433.5	***
301.	H	NH		H	460.5	***
302.	H	NH		H	486.4	*
303.	H	NH		H	476.4	*
304.	H	NH	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ Ph	H	453.4	*
305.	H	NH		H	433.5	*
306.	H	NH	CH ₂ CH(OMe) ₂	H	409.4	***
307.	H	NH	CH ₂ CH(OEt) ₂	H	437.5	**
308.	H	NH	CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	391.4	**
309.	H	NH	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	377.4	**
310.	H	NH		H	432.4	***
311.	H	-	CH ₂ CHF ₂	H	370.4	***
312.	H	-	CH ₂ CH ₂ CF ₃	H	402.4	***
313.	H	-		H	440.5	**
314.	H	-		H	412.5	***
315.	H	-		H	422.5	**

316.	H	-		H	402.5	**
317.	H	-		H	416.5	**
318.	H	-		H	442.5	***
319.	H	-	$t\text{Bu}$	H	362.5	***
320.	H	-	$\text{CH}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$	H	392.5	*
321.	H	-	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	H	376.5	***
322.	H	-	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	H	390.5	***
323.	6-F	-		H	497.6	***
324.	6-F	NH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	H	410.5	***
325.	8-F	-		H	449.3	***
326.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	423.3	***
327.	8-F	-		H	435.3	***
328.	8-F	-		H	497.3	***
329.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Bu})_2$	H	493.4	***
330.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	437.3	***
331.	8-F	-		H	435.5	***
332.	8-F	-		H	463.3	***
333.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_3$	H	378.2	***
334.	6-F	-		H	525.3	***

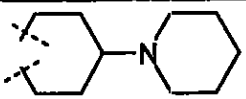
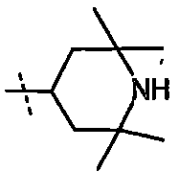
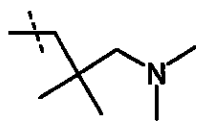
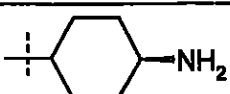
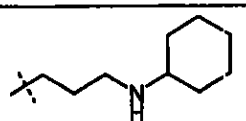
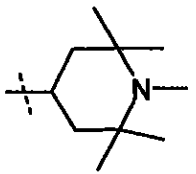
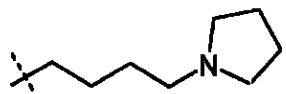
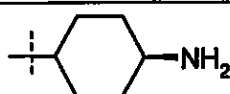
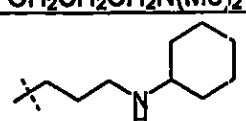
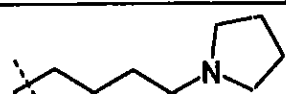
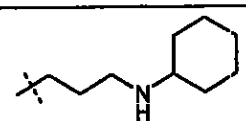
335.	6-F	-		H	479.3	***
336.	6-F	-		H	517.4	***
337.	6-F	-		H	511.3	***
338.	H	-		H	447.3	***
339.	H	-		H	445.3	***
340.	6-F	-		H	378.2	***
341.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	409.3	***
342.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	H	423.3	***
343.	6-F	-		H	435.3	***
344.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHnBu	H	423.3	***
345.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	493.4	***
346.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	H	437.3	***
347.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ Ph	H	457.3	***
348.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHIFr	H	423.3	***
349.	6-F	-		H	421.3	***
350.	6-F	-		H	451.3	***
351.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	395.3	***
352.	6-F	-		H	435.3	***
353.	6-F	-		H	433.3	***
354.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OnBu	H	438.3	***
355.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	395.3	***

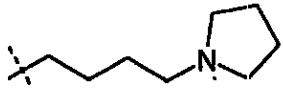
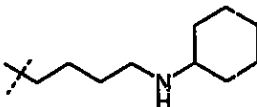
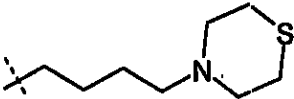
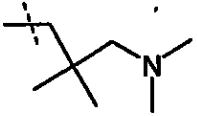
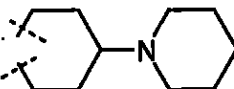
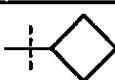
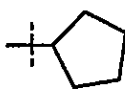
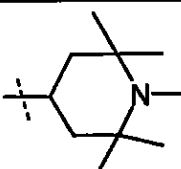
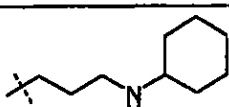
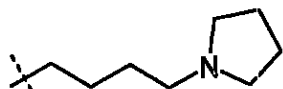
356.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	381.3	***
357.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	395.3	***
358.	6-F	-		H	463.4	***
359.	6-F	-		H	481.3	***
360.	6-F	-		H	462.2	**
361.	6-F	-		H	488.3	***
362.	6-F	-		H	442.3	**
363.	6-F	-		H	462.2	**
364.	6-F	-		H	462.2	**
365.	6-F	-		H	506.2, 508.2	*
366.	6-F	-		H	442.3	**
367.	6-F	-		H	442.3	**
368.	6-F	-		H	506.2, 508.2	**

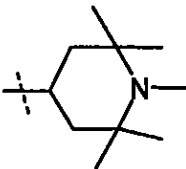
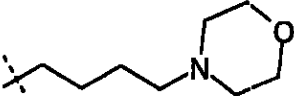
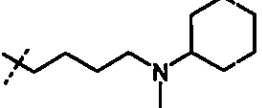
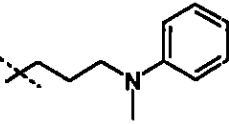
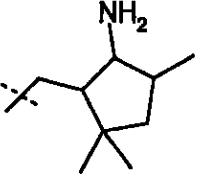
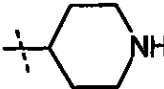
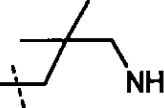
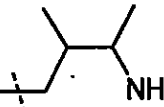
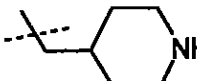
369.	6-F	-		H	480.2	**
370.	6-F	-		H	496.2	**
371.	6-F	-		H	496.2	**
372.	6-F	-		H	496.2	**
373.	6-F	-		H	446.3	**
374.	6-F	-		H	463.3	***
375.	6-F	-	tBu	H	380.3	***
376.	6-F	-	CH ₂ CHF ₂	H	388.2	***
377.	6-F	-	CH ₂ CH=CH ₂	H	364.2	***
378.	6-F	-		H	553.4	***
379.	6-F	-		H	524.4	**
380.	6-F	-		H	575.3	***
381.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	409.3	***

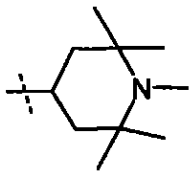
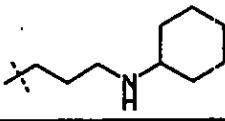
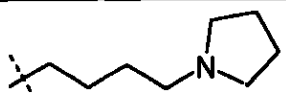
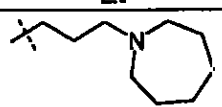
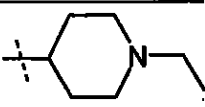
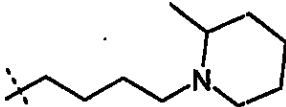
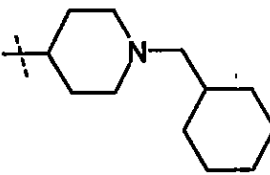
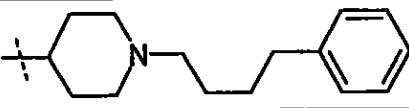
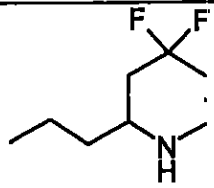
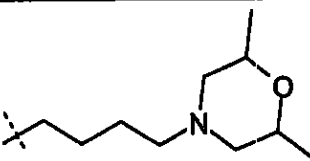
382.	8-F	-		H	463.3	***
383.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	409.3	***
384.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ NHBu	H	423.3	***
385.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHPr	H	423.3	***
386.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	396.3	***
387.	9-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	409.2	***
388.	9-F	-		H	449.2	***
389.	9-F	-		H	463.3	***
390.	9-F	-		H	477.3	***
391.	9-F	-		H	421.2	***
392.	9-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	H	437.2	***
393.	9-F	-		H	435.2	***
394.	9-F	-		H	463.2	***
395.	9-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHPr	H	423.2	***
396.	9-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	395.2	***
397.	9-F	-		H	451.2	***
398.	9-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	493.3	***
399.	9-F	-		H	483.2	***
400.	9-F	-	tBu	H	380.2	***
401.	9-F	-		H	433.2	***

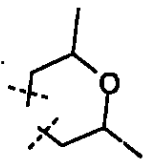
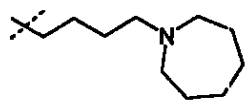
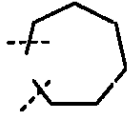
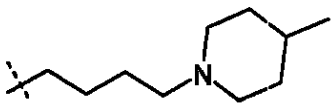
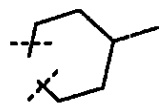
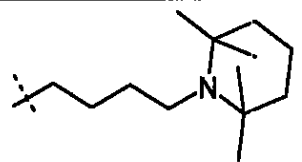
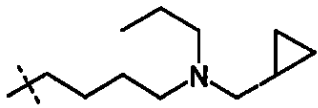
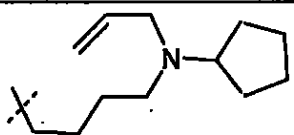
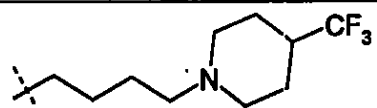
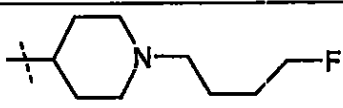
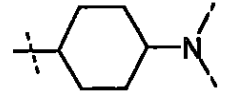
62

402.	9-F	-			475.2	**
403.	9-F	-		H	463.3	***
404.	9-F	-		H	437.2	***
405.	9-F	-		H	421.2	***
406.	8-Me	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	405.3	***
407.	8-Me	-		H	459.3	***
408.	8-Me	-		H	473.4	***
409.	8-Me	-		H	445.3	***
410.	6-F	-		H	421.3	***
411.	6-Cl	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	425.3	***
412.	6-Cl	-		H	479.2	***
413.	6-Cl	-		H	465.3	***
414.	6,8-diF	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	427.3	***
415.	6,8-diF	-		H	481.3	***

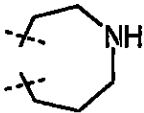
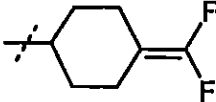
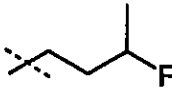
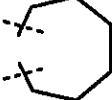
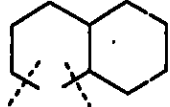
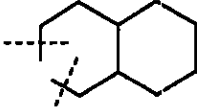
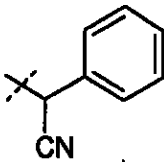
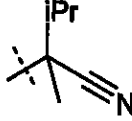
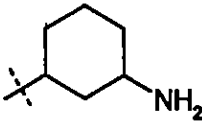
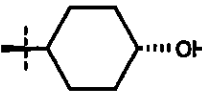
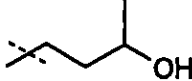
416.	6,8-diF	-		H	467.2	***
417.	6-F	-		H		***
418.	8-MeO	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	407.2	***
419.	6-F	-		H	481.2	***
420.	6-F	-		H	437.2	***
421.	6-F	-			475.2	**
422.	6-F	-	CH ₂ CF ₂ CF ₂ CF ₃	H	456.1	***
423.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CF ₃	H	420.1	***
424.	6-F	-		H	378.1	***
425.	6-F	-		H	392.2	***
426.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ F	H	370.1	***
427.	8-F	-		H	477.3	***
428.	6,9-diF	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	413.2	***
429.	6,9-diF	-		H	481.3	***
430.	6,9-diF	-		H	467.2	***

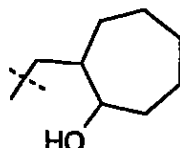
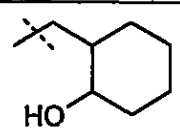
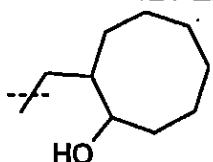
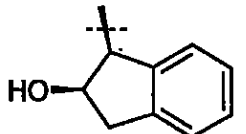
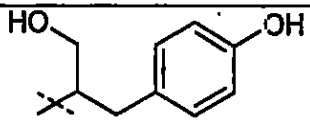
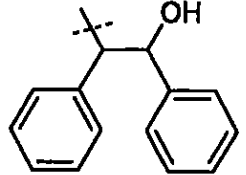
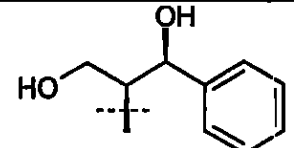
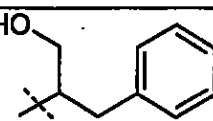
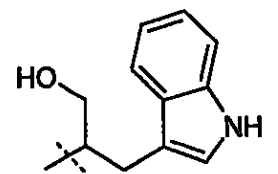
431.	6,9-diF	-		H	495.3	***
432.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})\text{Me}$	H	437.2	***
433.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	451.3	***
434.	6-F	-		H	465.2	***
435.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	H	449.2	***
436.	6-F	-		H	491.4	***
437.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$	H	398.2	***
438.	6-F	-		H	471.2	**
439.	6-F	-		H	463.3	***
440.	6-F	-		H	407.2	***
441.	6-F	-		H	409.3	***
442.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHnPr}$	H	423.2	***
443.	6-F	-		H	409.2	***
444.	6-F	-		H	421.1	***
445.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	H	381.2	***
446.	8-Cl	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	425.2	***

447.	8-Cl	-		H	493.2	***
448.	8-Cl	-		H	479.3	***
449.	8-Cl	-		H	465.2	***
450.	6-F	-	Et	H	352.2	***
451.	6-F	-		H	463.3	***
452.	6-F	-	Et	nPr	394.2	**
453.	6-F	-		H	435.2	***
454.	6-F	-		H	477.3	***
455.	6-F	-	CH ₂ tBu	H	394.2	***
456.	6-F	-		H	503.3	***
457.	6-F	-		H	539.3	***
458.	6-F	-		H	471.2	***
459.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₂ CH=CH ₂) ₂	H	475.3	***
460.	6-F	-		H	493.3	***

461.	6-F	-			422.2	***
462.	6-F	-		H	477.3	***
463.	6-F	-			406.2	***
464.	6-F	-		H	477.3	***
465.	6-F	-			406.2	***
466.	6-F	-		H	519.2	***
467.	6-F	-	CH ₂ CF ₂ CF ₂ H	H	438.1	***
468.	6-F	-		H	491.3	***
469.	6-F	-		H	503.3	***
470.	6-F	-		H	531.3	***
471.	6-F	-		H	481.2	***
472.	6-F	-		H	449.3	***
473.	8-F	-	CH ₂ CF ₂ H	H	388.1	***
474.	6-F	-	allyl	allyl	404.2	**
475.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CF=CF ₂	H	432.1	**

476.	6-F	-		H	507.3	***
477.	6-F	-		H	491.3	***
478.	6-F	-		H	465.3	***
479.	6-F	-		H	451.2	***
480.	6-F	-		H	465.2	***
481.	6-F	-		H	465.2	***
482.	6-F	-		H	363.1	***
483.	6-F	-		H	461.3	***
484.	6-F	-		H	515.3	***
485.	6-F	-		H	416.2	***
486.	6-F	-		H	377.1	***
487.	6-F	-	$C(CH_2OH)_3$	H	428.2	***
488.	6-F	-		H	393.1	***
489.	6-F	-			421.2	***

490.	6-F	-			407.1	***
491.	6-F	-	CH ₂ CONH ₂	H	381.2	***
492.	6-F	-		H	454.1	***
493.	6-F	-		H	398.1	***
494.	6-F	-			420.2	**
495.	6-F	-			446.2	
496.	6-F	-			446.2	
497.	6-F	-		H	439.1	**
498.	6-F	-		H	419.2	***
499.	6-F	-		H	421.2	***
500.	6,9-diF	-	CH ₂ CHF ₂	H	406.2	***
501.	6-F	-		H	422.2	***
502.	6-F	-		H	396.2	***

503.	6-F	-		H	450.2	**
504.	6-F	-		H	436.2	**
505.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ OH	H	411.2	***
506.	6-F	-		H	464.2	**
507.	6-F	-	CH(CH ₂ OH) ₂	H	398.1	***
508.	6-F	-	CH(CH ₃)CH ₂ OH	H	382.1	***
509.	6-F	-	CH(CH ₂ CH ₃)CH ₂ OH	H	396.2	***
510.	6-F	-		H	456.2	**
511.	6-F	-		H	474.1	**
512.	6-F	-		H	520.2	*
513.	6-F	-		H	474.1	**
514.	6-F	-		H	458.2	***
515.	6-F	-		H	497.2	**
516.	6-F	-	C(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	H	396.2	*

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

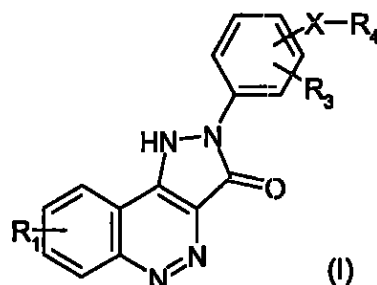
Examples of the result of testing the above compounds in the assay for inhibition of production of Interleukin-2 (IL-2) by human Jurkat T cells,

5 described above, are as follows:

Example No (see table)	Compound Concentration (μM)	Percentage Inhibition (relative to DMSO = 0%)
478	10	58.0
376	10	58.7
353	10	77.4
429	10	58.8
349	10	79.5
68	10	71.7
235	10	59.3
288	30	72
162	30	54.4
350	10	74.2
381	10	48.5
442	10	58.9
482	10	39.2
472	10	58.4
453	10	55.7
53	30	63.8

Claims:

1. A compound of formula (I) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof:



5

wherein

R_1 and R_3 independently represent H; F; Cl; Br; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl optionally substituted by F or Cl; or $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkoxy optionally substituted by F;

10 R_4 represents a carboxylic acid group ($-\text{COOH}$) or an ester thereof, or $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$, $-\text{NR}_7\text{C}(=\text{O})\text{R}_6$, $-\text{NR}_7\text{C}(=\text{O})\text{OR}_6$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NR}_7\text{R}_6$ or $-\text{NHC}(=\text{S})\text{NR}_7\text{R}_6$ wherein

R_6 represents H, or a radical of formula $-(\text{Alk})_m\text{-Q}$ wherein

15

m is 0 or 1

20

Alk is an optionally substituted divalent straight or branched $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkylene, or $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkenylene, or $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkynylene radical or a divalent $\text{C}_3\text{-C}_{12}$ carbocyclic radical, any of which radicals may contain one or more $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ or $-\text{N}(\text{R}_8)-$ links wherein R_8 represents H or $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl, $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkenyl, $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkynyl, or $\text{C}_3\text{-C}_6$ cycloalkyl, and

25

Q represents H; $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$ wherein R_9 and R_{10} independently represents H; $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl; $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkenyl; $\text{C}_3\text{-C}_4$ alkynyl; $\text{C}_3\text{-C}_6$ cycloalkyl; an ester group; an optionally substituted carbocyclic or heterocyclic group; or R_9 and R_{10} form a ring when taken

72

together with the nitrogen to which they are attached, which ring is optionally substituted; and

5 R₇ represents H or C₁-C₈ alkyl; or when taken together with the atom or atoms to which they are attached R₆ and R₇ form an optionally substituted monocyclic heterocyclic ring having 5, 6 or 7 ring atoms; and

X represents a bond or a divalent radical of formula -(Z)_n-(Alk)- or
10 -(Alk)-(Z)_n- wherein Z represents -O-, -S- or -NH-, Alk is as defined in relation to R₆ and n is 0 or 1.

2. A compound as claimed in claim 1 wherein the radical R₄X- is in the 4-position of the phenyl ring.

15

3. A compound as claimed in claim 1 or claim 2 wherein X is a bond.

4. A compound as claimed in any of the preceding claims wherein R₃ is hydrogen.

20

5. A compound as claimed in any of the preceding claims wherein R₁ is hydrogen or fluoro.

6. A compound as claimed in any of the preceding claims wherein R₄
25 represents -C(=O)NR₆R₇ wherein R₆ and R₇ are as defined in claim 1.

7. A compound as claimed in any of the preceding claims wherein R₄ represents -NHC(=O)NR₇R₆ wherein R₆ and R₇ are as defined in claim 1.

30 8. A compound as claimed in claim 7 wherein R₆ is a quinuclidinyl radical.

9. A compound as claimed in any of the preceding claims wherein R₆ represents a radical of formula -(Alk)_m-Q wherein m is 1 and the divalent radical Alk contains 3 or 4 carbon atoms and is unsubstituted, and Q

- represents $-NR_9R_{10}$ wherein R_9 and R_{10} independently represent H; C₁-C₄ alkyl; C₃-C₄ alkenyl; C₃-C₄ alkynyl; C₃-C₈ cycloalkyl; an ester group; an optionally substituted carbocyclic or heterocyclic group; or form a ring when taken together with the nitrogen to which they are attached, which ring is optionally substituted.
- 5
10. A compound as claimed in any of claims 6 to 8 wherein R_7 is hydrogen.
11. A compound as claimed in claim 1 wherein Q represents H; -CF₃; -OH; -SH; $-NR_8R_8$ wherein each R_8 independently represents H; C₁-C₄ alkyl; C₃-C₄ alkenyl; C₃-C₄ alkynyl; C₃-C₈ cycloalkyl; an ester group; an optionally substituted aryl, aryloxy, cycloalkyl, cycloalkenyl or heterocyclic group; or form a ring when taken together with the nitrogen to which they are attached; and
- 10
- 15 R_7 represents H or C₁-C₈ alkyl; or when taken together with the atom or atoms to which they are attached R_8 and R_7 form a monocyclic heterocyclic ring having 5, 6 or 7 ring atoms.
12. A compound as claimed in claim 11 wherein R_4 represents a carboxylic acid group (-COOH) or an ester group of formula -COOR wherein R is methyl, ethyl, n- or iso-propyl, n-, sec- or tert-butyl or benzyl.
- 20
13. A compound as claimed in claim 11 or claim 12 wherein R_6 represents a radical of formula $-(Alk)_m-Q$ wherein m is 1, Alk is -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, or -CH₂CH(CH₃)CH₂-, or a divalent cyclopropylene, cyclopentylene or cyclohexylene radical, optionally substituted by OH, oxo, CF₃, methoxy or ethoxy, and Q represents hydrogen; $-NR_8R_8$ wherein each R_8 may be the same or different and selected from hydrogen, methyl, ethyl, n- or isopropyl or tert-butyl; a methyl, ethyl or benzyl ester; or an optionally substituted phenyl, phenoxy, cyclopentyl, cyclohexyl, furyl, thienyl, piperidyl, or piperazinyl group.
- 25
- 30
14. A compound as claimed in any of claims 11 to 13 wherein R_7 represents methyl, ethyl, n- or iso-propyl, n-, sec- or tert-butyl; or when taken

together with the atom or atoms to which they are attached R_6 and R_7 form a monocyclic heterocyclic ring having 5, 6 or 7 ring atoms;

15. A compound as claimed in any of claims 11 to 14 wherein R_1 is H, F,
5 Cl, methyl, methoxy, or methylenedioxy.

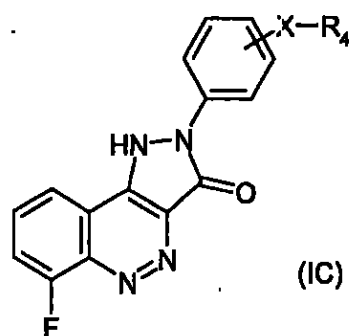
16 A compound as claimed in any of claims 11 to 14 wherein R_1 is F, in the 6-position of the 3-oxo-1,3-dihydro-2H-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl ring system.

10

17. A compound as claimed in any of claims 11 to 16 wherein R_3 is H, F, Cl, methyl, methoxy, or methylenedioxy.

18. A compound as claimed in any of claims 11 to 17 wherein X is a bond,
15 or a $-\text{CH}_2-$ or $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ radical.

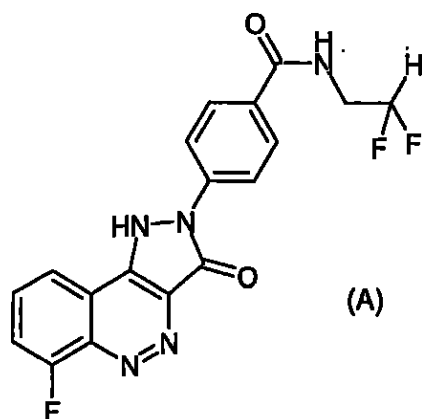
19. A compound of formula (IC) or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof:



- 20 wherein X and R_4 are as specified in any of claims 3, 7 to 10 or 11 to 18.
20. A compound as claimed in claim 18 wherein the radical R_4X- is in the 4-position of the phenyl ring.
- 25 21. A compound as claimed in claim 19 or claim 20 wherein X is a bond and R_4 is $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$ wherein R_6 and R_7 are as specified in claim 11, or claim 13 or 14 respectively.

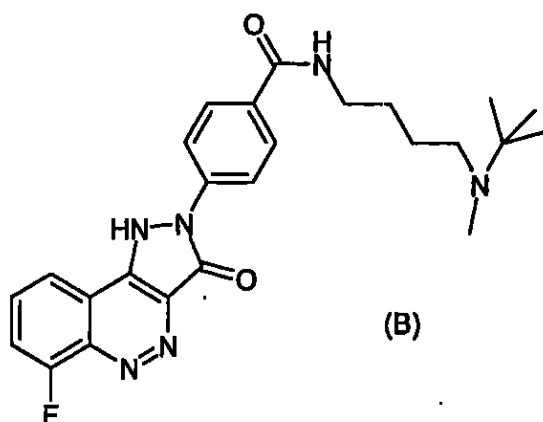
75

22. The compound 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-N-(2,2-difluoro-ethyl)-benzamide, of formula (A)



5 or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof.

23. The compound N-[3-(tert-butyl-methyl-amino)-butyl]-4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihydro-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl)-benzamide, of formula (B):



10

or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt, hydrate or solvate thereof.

24. A pharmaceutical or veterinary composition comprising a compound as
15 claimed in any of claims 1 to 23 together with a pharmaceutically or veterinarily acceptable excipient or carrier.

25. A compound as claimed in any of claims 1 to 23 for use in the treatment of conditions which benefit from immunomodulation.
26. The use of a compound as claimed in any of claims 1 to 23 in the manufacture of a medicament for the treatment of conditions which benefit from immunomodulation,
27. A method of immunomodulation in mammals, including humans, comprising administration to a mammal in need of such treatment an immunomodulatory effective dose of a compound as claimed in any of claims 1 to 23.
28. A compound for use as claimed in claim 25, the use as claimed in claim 26 or a method as claimed in claim 27 wherein the immunomodulation is immuno-inhibition.
29. A compound for use as claimed in claim 25, the use as claimed in claim 26 or a method as claimed in claim 27 wherein the condition is autoimmune disease, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, diabetes, asthma, transplantation, systemic lupus erythematosus and psoriasis.

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de Publicación Internacional
23 de Septiembre de 2004 (23.09.2004)

PCT (10) Número de Publicación Internacional
WO 2004/081011 A1

- (51) Clasificación Internacional de Patentes⁷:
519/00, A61K 31/5025, A61P 3/10, 17/06, 19/02, 37/00

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/GB2004/001008

(22) Fecha de Presentación Internacional: 10 de Marzo de 2004 (10.03.2004)

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Fecha de Prioridad:
0305876.5 14 de Marzo de 2003 (14.03.2003) GB
0319429.7 19 de Agosto de 2003 (19.08.2003) GB

(71) Solicitante: (para todos los Estados designados excepto US):
AVIDEX LIMITED [GB/GB]; 57 C Milton Park, Abingdon,
Oxfordshire OX14 4RX (GB).

(72) Inventores; e

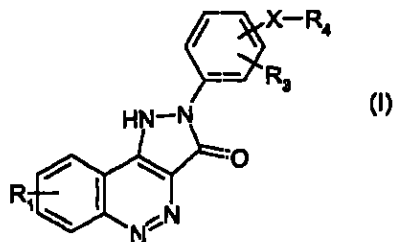
(75) Inventores/Solicitantes (únicamente para US): MATHEWS, Ian,
Richard [GB/GB]; Avidex Limited, 57 C Milton Park, Abingdon,
Oxfordshire OX14 4RX (GB).

(74) Agente: WALLS, Alan, James; Avidex Limited, 57C Milton
Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RX (GB).
- (81) Estados Designados: (a menos que se indique de otra
manera, para cada clase de protección nacional
disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados: (a menos que se indique de otra
manera, para cada clase de protección regional
disponible): Patente ARIPO (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), Patente
euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
Patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG.).
- Publicada
— con reporte de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaciones, referirse a las
"Notas de Guía sobre Códigos y Abreviaciones" que aparecen
al principio de cada ejemplar regular de la gaceta del PCT.

(54) Título: COMPUESTOS HETEROCICLICOS INMUNOMODULADORES



(57) Resumen: Los compuestos de la fórmula (I) son inhibidores de CD80 y son útiles en la terapia de inmunomodulación: en donde R₁ y R₃ representan independientemente H; F; Cl; Br; -NO₂; -CN; alquilo de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F o Cl; o alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F; R₄ representa un grupo de ácido carboxílico (-COOH) o un éster del mismo, o -C(=O)NR₆R₇, -NR₇C(=O)R₆, -NR₇C(=O)OR₆, -NHC(=O)NR₇R₆ o -NHC(=S)NR₇R₆, en donde R₆ representa H, o un radical de la fórmula -(Alq)_m-Q en donde m es 0 o 1, Alq es un radical de alquileo de 1 a 12 átomos de carbono o alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono o alquileno de 2 a 12 átomos de carbono de cadena recta o ramificada, divalente, sustituido opcionalmente o un radical carbocíclico de 3 a 12 átomos de carbono, divalente, cualquiera de estos radicales puede contener una o más uniones de -O-, -S- o -N(R₈)-, en donde R₈ representa H o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alqueno de 3 a 4 átomos de carbono, alquino de 3 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono y Q representa H; -NR₉R₁₀, en donde R₉ y R₁₀ representan independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alqueno de 3 a 4 átomos de carbono; alquino de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico sustituido opcionalmente; o R₉ y R₁₀ forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, anillo que es sustituido opcionalmente; y R₇ representa H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; o cuando se toma junto con el átomo o átomos a los cuales están unidos R₆ y R₇ forman un anillo heterocíclico, monocíclico, sustituido opcionalmente que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo; y X representa un enlace o un radical divalente de la fórmula -(Z)_n-(Alq)- o -(Alq)-(Z)_n, en donde Z representa -O-, -S- o -NH-, Alq es como se define con relación a R₆ y n es 0 o 1.

COMPUESTOS HETEROCICLICOS INMUNOMODULADORES

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a compuestos heterocíclicos, novedosos, a métodos para su preparación, a composiciones que los contienen y a métodos y al uso para el tratamiento clínico de condiciones médicas, las cuales se pueden beneficiar de la inmunomodulación, por ejemplo, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, diabetes, asma, transplante, lupus eritematoso sistémico y psoriasis. Más particularmente, la presente invención se refiere a compuestos heterocíclicos, novedosos, los cuales son antagonistas de CD80 capaces de inhibir las interacciones entre CD80 y CD28, útiles para la inmunoinhibición.

Antecedentes de la Invención

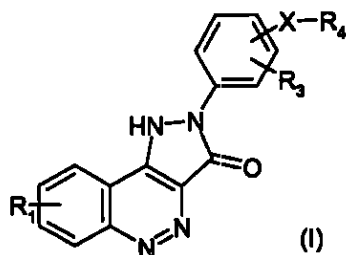
El sistema inmune posee la capacidad para controlar la homeostasis entre la activación e inactivación de linfocitos a través de diversos mecanismos reguladores durante y después de una respuesta inmune. Entre estos se encuentran los mecanismos que inhiben y/o anulan específicamente una respuesta inmune. De esta manera, cuando un antígeno es presentado por moléculas de MHC al receptor de células T, las células T son activadas adecuadamente solo en presencia de señales co-estimuladoras, adicionales. En ausencia de estas

señales accesorio, no existe una activación de linfocitos y se induce un estado de inactivación funcional que es denominado ya sea anergia o tolerancia, o la célula T es suprimida específicamente por la apoptosis.

Una señal co-estimuladora de este tipo involucra la interacción de CD80 sobre células que presentan antígenos especializados con CD28 sobre las células T y se ha demostrado que esta señal es esencial para la activación completa de células T (Lenschow y colaboradores, (1996) Annu. Rev. Immunol., 14, 233-258). Por lo tanto, sería deseable proporcionar compuestos que inhibieran esta interacción de CD80/CD28.

Descripción Detallada de la Invención

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal, hidrato o solvato aceptables desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo:



en donde

R₁ y R₃ representan independientemente H; F; Cl; Br; -NO₂; -CN; alquilo de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F o Cl; o alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono sustituido

opcionalmente por F;

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

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

m es 0 o 1

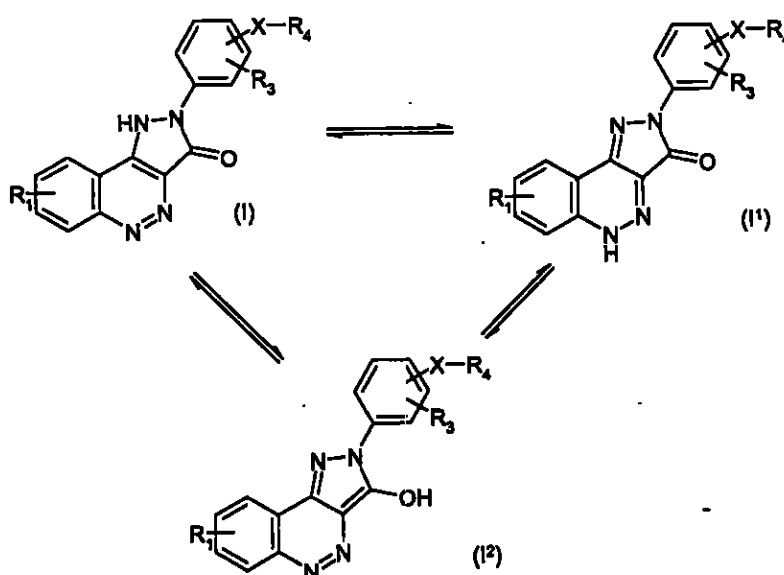
Alq es un radical de alquileo de 1 a 12 átomos de carbono o alquenileo de 2 a 12 átomos de carbono o alquinileo de 2 a 12 átomos de carbono de cadena recta o ramificada, divalente, sustituido opcionalmente o un radical carbocíclico de 3 a 12 átomos de carbono, divalente, cualquiera de estos radicales puede contener una o más uniones de $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ o $-\text{N}(\text{R}_8)-$, en donde R_8 representa H o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono, alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono y

Q representa H; $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$, en donde R_9 y R_{10} representan independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono; alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico sustituido opcionalmente; o R_9 y R_{10} forman un anillo cuando se

toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están
unidos, anillo que es sustituido opcionalmente; y
 R_7 representa H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; o
cuando se toma junto con el átomo o átomos a los cuales
están unidos R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico,
monocíclico, sustituido opcionalmente que tiene 5, 6 o 7
átomos del anillo; y

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

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



Después, los compuestos de la invención pueden ser
representados y referidos en cualquier forma tautomérica (I),
y se debe entender que cualquiera y la totalidad de formas

tautoméricas de la estructura (I), en particular (I¹) y (I²), están incluidas en la invención.

Los compuestos de la fórmula general (I) son antagonistas de CD80. Estos inhiben la interacción entre CD80 y CD28 y, de esta manera, la activación de las células T, modulando con lo cual la respuesta inmune.

Por consiguiente, la invención también incluye:

- (i) un compuesto de la fórmula (I) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo para el uso en tratamiento de condiciones que se benefician de la inmunomodulación, y en particular para la inmuno-inhibición.
- (ii) el uso de un compuesto de la fórmula (I) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo en la preparación de un medicamento para el tratamiento de condiciones que se benefician de la inmunomodulación, y en particular para la inmuno-inhibición.
- (iii) un método para la inmunomodulación, y en particular para la inmuno-inhibición, en mamíferos, inclusive humanos, que comprende la administración a un mamífero en necesidad de este tratamiento de una dosis efectiva desde el punto de vista inmuno-modulador de un compuesto de la fórmula (I) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo.
- (iv) una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal aceptable desde el

punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo junto con un portador o excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario.

Las condiciones que se benefician de la inmunomodulación incluyen:

Encefalomiелitis diseminada, aguda

Insuficiencia suprarrenal

Angiitis alérgica y granulomatosis

Amiloidosis

Espondilitis anquilosante

Asma

Enfermedad autoinmune de Addison

Alopecia autoinmune

Hepatitis activa, crónica, autoinmune

Anemia hemolítica, autoinmune

Neutrogena autoinmune

Púrpura trombocitopénica, autoinmune

Enfermedad de Behçet

Degeneración cerebelar

Hepatitis activa, crónica

Poliradiculoneuropatía desmielinizante, inflamatoria, crónica

Neuropatía crónica con gammapatía monoclonal

Poliarteritis nodosa clásica

Hiperplasia adrenal, congénita

Criopatías

Dermatitis herpetiforme

Diabetes

Síndrome miasténico Eaton-Lambert

Encefalomiелitis

Epidermolisis ampollar, adquirida

Eritema nodosa

Enteropatía sensible al gluten

Síndrome de Goodpasture

Síndrome de Guillain-Barre

Tiroiditis de Hashimoto

Hipertiroidismo

Hemacromatosis idiopática

Glomerulonefritis membranosa, idiopática

Vasculitis aislada del sistema nervioso central

Enfermedad de Kawasaki

Enfermedad renal de cambio mínimo

Vascularidades diversas

Enfermedad de tejido conectivo, mezclado

Neuropatía motora, multifocal con bloque de conducción

Esclerosis múltiple

Miastenia grave

Síndrome de Opsoclonus-myoclonus

Penfigoideo

Pénfigo

Anemia perniciosa

Polimiositis/dermatomiositis

Artrítides pos-infectiva

Esclerosis biliar, primaria

Psoriasis

Artrítides reactiva

Enfermedad de Reiter

Retinopatía

Artritis reumatoide

Colangitisesclerosante

Síndrome de Sjögren

Síndrome de hombre rígido

Tiroiditis sub-aguda

Lupus eritematoso sistémico

Vasculitides necrosante, sistémico

Esclerosis sistémica (escleroderma)

Arteritis de Takayasu

Arteritis temporal

Tromboangiitis obliterante

Síndrome poliglandular autoinmune tipo I y tipo II

Colitis ulcerativa

Uveítis

Granulomatosis de Wegener

Como se utiliza en este texto, el término "éster" se refiere a un grupo de la fórmula -COOR , en donde R es un radical derivado especulativamente del alcohol ROH. Los

ejemplos de los grupos éster incluyen los ésteres fisiológicamente hidrolizables, tales como los ésteres metílicos, etílicos, n- e iso-propílicos, n-, sec- y terc-butílicos y bencílicos.

Como se utiliza en este texto, el término "alquilenno" se refiere a una cadena de alquilo recta o ramificada que tiene dos valencias insatisfechas, por ejemplo $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ y $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$.

Como se utiliza en este texto, el término "alquenileno" se refiere a una cadena de alqueno recta o ramificada que tiene dos valencias insatisfechas, por ejemplo $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ y $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHCH}_2-$.

Como se utiliza en este texto, el término "alquinileno" se refiere a una cadena de alquino recta o ramificada que tiene dos valencias insatisfechas, por ejemplo $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$ y $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$.

A menos que se especifique de otra manera en el contexto en el cual ocurre, el término "sustituido" aplicado a cualquier radical en la presente significa sustituido por al menos un sustituyente seleccionado de, por ejemplo, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alqueno de 1 a 6 átomos de carbono, alquino de 2 a 6 átomos de carbono, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono sustituido por fluoro, alqueno de 1 a 6 átomos de carbono sustituido por fluoro, alquino de 2 a 6 átomos de

carbono sustituido por fluoro, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono y alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono sustituido por fluoro (inclusive el caso especial donde un anillo es sustituido en los átomos de C adyacentes del anillo por alquilendioxi, tal como metilendioxi o etilendioxi), alquiltio de 1 a 6 átomos de carbono, fenilo, bencilo, fenoxi, benciloxi, hidroxí, mercapto, amino, fluoro, cloro, bromo, ciano, nitro, oxo, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_2\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{COR}^A$, $-\text{COOR}^A$, $-\text{SO}_2\text{OR}^A$, $-\text{NHCOR}^A$, $-\text{NHSO}_2\text{R}^A$, $-\text{CONHR}^A$, $-\text{SO}_2\text{NHR}^A$, $-\text{NHR}^A$, $-\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{CONR}^A\text{R}^B$ o $-\text{SO}_2\text{NR}^A\text{R}^B$, en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o alcoxi de 2 a 6 átomos de carbono o un grupo monocíclico, carbocíclico o heterocíclico de 5 a 7 miembros del anillo, o R^A y R^B forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos. En el caso donde "sustituido" significa sustituido por fenilo, bencilo, fenoxi o benciloxi, el anillo de fenilo del mismo puede ser sustituido en sí por cualquiera de los anteriores, excepto fenilo, bencilo, fenoxi o benciloxi.

Como se utiliza en este texto, el término "arilo" se refiere a un radical aromático, mono-, bi- o tri-cíclico y a dos de estos radicales unidos covalentemente entre sí, de los cuales fenilo, bifenilo y naftilo son ilustrativos de estos radicales.

Como se utiliza en este texto, el término incondicional "carbociclilo" o "carbocíclico" incluye arilo,

cicloalquilo y cicloalquenilo y se refiere a sistemas de anillos (monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos o conectados) cuyos átomos del anillo son todos carbono.

Como se utiliza en este texto, el término incondicional "cicloalquilo" se refiere a un sistema de anillos carbocíclicos, el cual contiene solo enlaces individuales entre los átomos de carbono del anillo.

Como se utiliza en este texto, el término incondicional "cicloalquenilo" se refiere a un sistema de anillos carbocíclicos, el cual contiene al menos un enlace doble entre un par de átomos de carbono del anillo.

Como se utiliza en este texto, el término "heteroarilo" se refiere a un radical mono-, bi- o tri-cíclico, aromático que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de S, N y O. De los cuales tienilo, benztienilo, furilo, benzfurilo, pirrolilo, imidazolilo, bencimidazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isotiazolilo, bencisotiazolilo, pirazolilo, oxazolilo, benzoxazolilo, isoxazolilo, benzisoxazolilo, isotiazolilo, triazolilo, benztriazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, indolilo e indazolilo son ilustrativos de estos radicales.

Como se utiliza en este texto, el término incondicional "heterociclilo" o "heterocíclico" incluye "heteroarilo" como se definiera anteriormente y, en particular,

significa un radical no aromático, mono-, bi- o tri-cíclico o conectado que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de S, N y O, y a grupos que consisten de un radical no aromático, monocíclico que contiene uno o más de estos heteroátomos, el cual es unido covalentemente a otro de estos radicales o a un radical carbocíclico, monocíclico. De los cuales los grupos pirrolilo, furanilo, tetrahydrofuranilo, tienilo, piperidinilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirrolidinilo, pirimidinilo, morfolinilo, piperazinilo, indolilo, morfolinilo, benzofuranilo, piranilo, tetrahidropiranilo, quinuclidinilo, isoxazolilo, bencimidazolilo, metilendioxfenilo, etilendioxfenilo, maleimido y succinimido son ilustrativos de estos radicales.

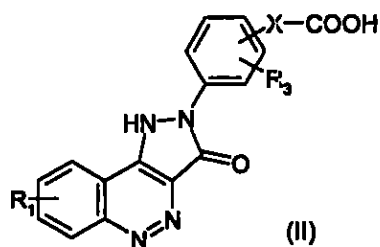
Algunos de los compuestos de la invención contienen uno o más centros quirales debido a la presencia de átomos de carbono asimétricos. La presencia de átomos de carbono asimétricos da origen a estereoisómeros o diaestereoisómeros con la estereoquímica R o S en cada centro quiral. La invención incluye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

Las sales de compuestos formadores de sales de la invención incluyen sales ácidas de adición y sales de bases fisiológicamente aceptables. Las sales ácidas de adición adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de acetato, aspartato,

benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzoato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yodo, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato de hidrógeno/difosfato de hidrógeno, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato. Las sales de bases adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc.

Métodos

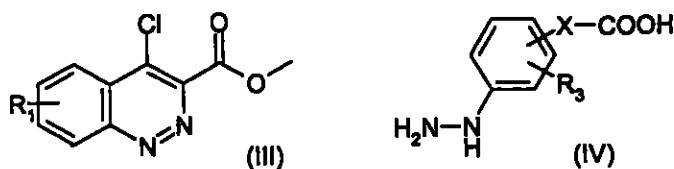
Los compuestos de la invención, en donde R_4 representa un grupo amida $-C(=O)NR_6R_7$, se pueden preparar mediante la reacción de la amina apropiada HNR_6R_7 con un compuesto de la fórmula (II) para amidar el grupo de ácido carboxílico:



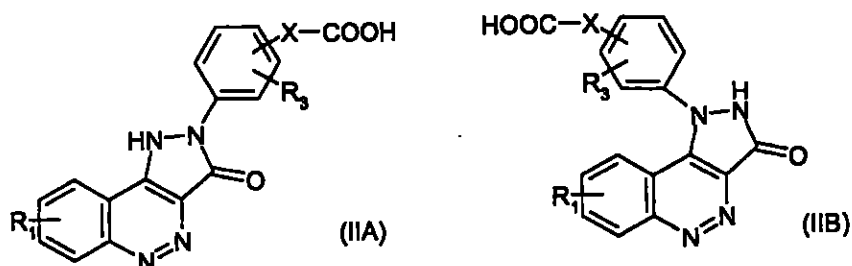
los símbolos R_1 , R_3 , X , R_6 y R_7 son como se definiera con

relación a la fórmula (I) anterior.

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

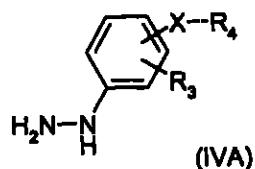


Esta reacción puede dar por resultado la preparación de una mezcla de los isómeros de posición (IIA) y (IIB):



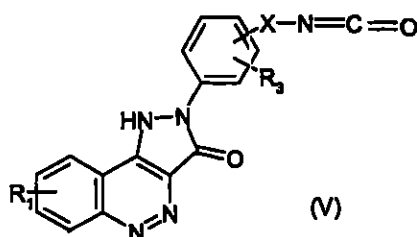
a partir de los cuales se puede separar el isómero deseado (IIA).

Los compuestos (I), en donde R_4 es un grupo de éster o amida, también se pueden preparar a partir del producto intermediario (III) mediante la reacción con la hidrazina apropiada (IVA)



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

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



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

En una ruta alternativa para los compuestos de "amida inversa" ($R_4 = -NR_7C(=O)R_6$) de la invención, un compuesto de la estructura (V), en la cual el radical de

isocianato es reemplazado por un grupo nitro, se puede reducir a la amina correspondiente, la cual entonces puede ser acilada para formar la amida inversa, deseada.

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

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

Los detalles adicionales de los métodos sintéticos para la preparación de los compuestos (I) de la invención, y productos intermediarios tales como (III), se pueden encontrar en los ejemplos de este texto.

En los compuestos de la invención:

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

X puede ser, por ejemplo, un enlace o un radical $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Se prefiere actualmente un enlace.

R_3 puede ser, por ejemplo, H, F, Cl, metilo, metoxi o metilendioxi. Actualmente se prefiere que R_3 sea H.

R_1 puede ser, por ejemplo, H, F, Cl, metilo, metoxi o metilendioxi. Actualmente se prefiere que R_1 sea hidrógeno o fluoro, particularmente en la posición 6 del sistema de

anillos de 3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-ilo.

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

Cuando R_4 es un grupo de éster, los ejemplos incluyen aquellos de la fórmula $-\text{COOR}$, en donde R es éster metílico, etílico, n- o iso-propílico, n-, sec- o terc-butílico o bencílico.

R_6 , cuando está presente, representa H, o un radical de la fórmula $-(\text{Alq})_m-\text{Q}$, en donde m, Alq y Q son como se definiera anteriormente. Cuando m es 1, Alq puede ser, por ejemplo, un radical alquileo de 1 a 6 átomos de carbono de cadena recta o ramificada, tal como $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$. Alq también puede ser, por ejemplo, un radical divalente de ciclopropileno, ciclopentileno o ciclohexileno. El radical Alq puede ser sustituido opcionalmente por, por ejemplo, OH, oxo, CF_3 , metoxi o etoxi. El radical Alq puede contener opcionalmente un heteroátomo, por ejemplo en la forma de una unión de éter, tioéter o amino.

El grupo Q puede representar, por ejemplo, hidrógeno; $-\text{NR}_9\text{R}_{10}$ en donde R_9 y R_{10} pueden ser los mismos o diferentes y se pueden seleccionar de hidrógeno, metilo, etilo, n- o isopropilo o terc-butilo; un grupo

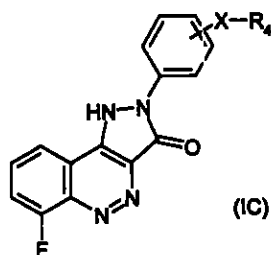
de éster, por ejemplo un éster metílico, etílico o bencílico; o un grupo arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo o heterocíclico sustituido opcionalmente, por ejemplo un grupo fenilo, fenoxi, ciclopentilo, ciclohexilo, furilo, tienilo, quinuclidinilo, piperidilo o piperazinilo.

R_7 , cuando está presente, representa H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, n- o iso-propilo, n-, sec- o terc-butilo; o cuando se toma junto con el átomo o los átomos a los cuales están unidos R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico, monocíclico que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo.

Se prefieren especialmente los casos donde R_4 representa $-C(=O)NR_6R_7$ o $-NHC(=O)NR_7R_6$ en donde R_7 es hidrógeno y R_6 representa un radical de la fórmula $-(Alq)_m-Q$, en donde m es 1 y el radical divalente Alq contiene 3 o 4 átomos de carbono y no es sustituido, y Q representa $-NR_9R_{10}$, en donde R_9 y R_{10} representan independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono; alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico sustituido opcionalmente; o forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, anillo que es sustituido opcionalmente.

Un subconjunto preferido, específico de compuestos

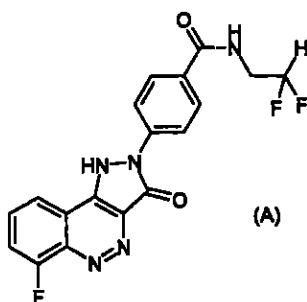
de la invención tiene la fórmula (IC):



en donde X y R_4 son como se definiera anteriormente. En este subconjunto, el radical R_4X - puede estar en la posición 4 del anillo de fenilo. Este subconjunto incluye en particular los compuestos en donde X es un enlace y R_4 es $-C(=O)NR_6R_7$ en donde R_6 y R_7 son como se especificara anteriormente. Por ejemplo, en estos compuestos R_6 puede ser quinuclidinilo y R_7 es hidrógeno.

Los compuestos específicos de la invención incluyen aquellos de los ejemplos de este texto.

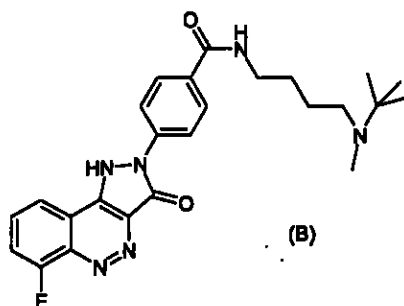
Un compuesto preferido de la invención es 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(2,2-difluoro-etil)-benzamida, de la fórmula (A)



o una sal, hidrato o solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo.

Otro compuesto preferido de la invención es N-[3-(terc-butil-metil-amino)-butil]-4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-

pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-benzamida, de la fórmula (B):



o una sal, hidrato o solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo.

Como se mencionara anteriormente, la invención incluye una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo junto con un excipiente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario. En estas composiciones, se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico que se emplea, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos y la causa y gravedad de la enfermedad particular que se somete a la terapia. Los niveles de dosis óptimos y la frecuencia de dosificación se determinarán mediante una prueba clínica.

Los compuestos con los cuales está relacionada la invención se pueden preparar para la administración por cualquier ruta consistente con sus propiedades farmacocinéticas. Las

composiciones que se pueden administrar por la ruta oral pueden estar en la forma de tabletas, cápsulas, polvos, gránulos, pastillas rombóticas, preparaciones líquidas o de gel, tales como soluciones o suspensiones parenterales, orales, tópicas o estériles. Las tabletas y cápsulas para la administración oral pueden estar en una forma de presentación de dosis unitaria y pueden contener excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, goma acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinil-pirrolidona; rellenos, por ejemplo lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricante para la fabricación de tabletas, por ejemplo estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice; desintegrantes, por ejemplo almidón de papa o agentes humectantes, aceptables, tales como lauril-sulfato de sodio. Las tabletas se pueden revestir de acuerdo con métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal. Las preparaciones líquidas, orales pueden estar en la forma de, por ejemplo, suspensiones, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos u oleosos o se pueden presentar como un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Estas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales, tales como agentes de suspensión, por ejemplo sorbitol, jarabe, metilcelulosa, jarabe de glucosa, grasas comestibles, hidrogenadas de gelatina; agentes emulsionantes, por ejemplo lecitina, monooleato de sorbitan o goma acacia; vehículos no acuosos (los

cuales pueden incluir aceites comestibles), por ejemplo aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos, tales como glicerina, propilenglicol o alcohol etílico; conservadores, por ejemplo p-hidroxibenzoato de metilo o propilo o ácido sórbico y, si se desea, agentes saborizantes o colorantes convencionales.

Para la aplicación tópica a la piel, el fármaco se puede preparar en una crema, loción o ungüento. Las formulaciones de crema o ungüento que se pueden utilizar para el fármaco son formulaciones convencionales bien conocidas en el campo, por ejemplo como se describe en libros de texto estándar de la ciencia farmacéutica, tal como la Farmacopea Británica.

Para la aplicación tópica a los ojos, el fármaco se puede preparar en una solución o suspensión en un vehículo acuoso o no acuoso, estéril, adecuado. Los aditivos, por ejemplo amortiguadores, tales como metabisulfito de sodio o edeato de disodio; conservadores que incluyen agentes bactericidas y fungicidas, tales como acetato o nitrato mercurico de fenilo, cloruro de benzalconio o clorhexidina y agentes espesadores, tales como hipromelosa también se pueden incluir.

El ingrediente activo también se puede administrar por la ruta parenteral en un medio estéril. Dependiendo del vehículo y la concentración utilizados, el fármaco puede ser ya sea suspendido o disuelto en el vehículo. De manera ventajosa, los adyuvantes, tales como un anestésico local, conservador y agentes amortiguadores, se pueden disolver en el vehículo.

100

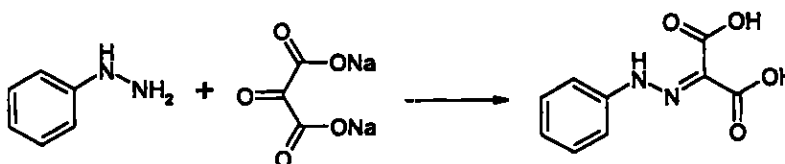
Las modalidades de la invención se describen en los siguientes ejemplos no limitantes:

Las siguientes abreviaciones se utilizan en las descripciones experimentales:

DMF	Dimetilformamida
DMA	Dimetilacetamida
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
HBTU	Hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
CL-EM	Cromatografía líquida-Espectro de masas
RMN	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

Ejemplo 1

Paso 1: Preparación de ácido (fenilhidrazono)malónico:



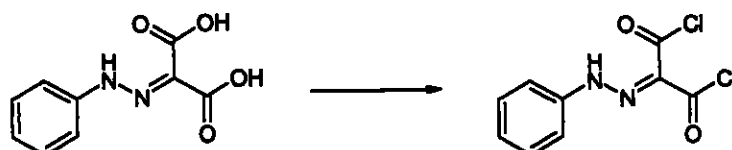
El monohidrato de mesoxalato de sodio (5.00 g, 27.8 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 1 M (50 ml) para proporcionar una solución turbia, incolora. La fenilhidrazina (3.00 g, 2.72 ml, 27.8 mmol) se adicionó gota a gota a temperatura ambiente a la mezcla agitada. Un producto precipitado de color amarillo, formado se colectó mediante la filtración después de 90 minutos y se lavó con agua (50 ml). La torta del filtro se trituroó con acetato de etilo/hexano [1:1], se filtró y

127

se secó bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un polvo amarillo (4.74 g, 22.7 mmol, 82%). CL-EM: m/z 207 $[M-H]^+$.

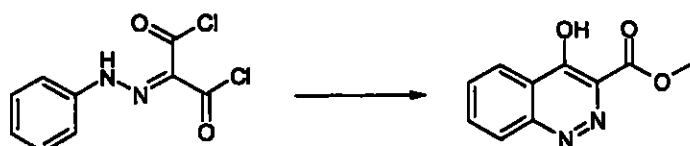
Alternativamente, el producto se puede extraer de la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 250 ml), la fase orgánica se puede secar sobre sulfato de magnesio, se puede filtrar y el solvente se puede remover bajo vacío.

Paso 2: Preparación de dicloruro de (fenilhidrazono)-malonoilo:



El ácido (fenilhidrazono)malónico (1.00 g, 4.80 mmol) se mezcló bajo una atmósfera inerte con cloroformo seco (15 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y se adicionó en porciones pentacloruro de fósforo (2.19 g, 10.5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1.5 horas para proporcionar una solución de color verde. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con hexano (15 ml). Un producto precipitado, formado de color verde se colectó mediante la filtración y secó bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un polvo de color verde (645 mg, 2.63 mmol, 53%).

Paso 3: Preparación del 4-hidroxicinnolin-3-carboxilato de metilo



El dicloruro de (fenilhidrazono)malonoilo (2.45 g, 0.01 mmol) se mezcló bajo una atmósfera inerte con 1,2-dicloroetano (15 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. El tetracloruro de titanio (1.89 g, 1.09 ml) se adicionó gota a gota para formar una solución de color café. La mezcla se calentó a reflujo durante toda la noche, se enfrió a temperatura ambiente y se enfrió rápidamente gota a gota con metanol (15 ml). La agitación continuó durante 30 minutos y los productos volátiles se removieron bajo vacío. Se adicionó agua (100 ml) y la suspensión obtenida se extrajo con n-butanol (2 x 50 ml). Las fases orgánicas, combinadas se lavaron con agua (2 x 20 ml) y se concentraron bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un sólido de color verde (1.04 g, 5.10 mmol, 51%). CL-EM: m/z 205 $[M+H]^+$.

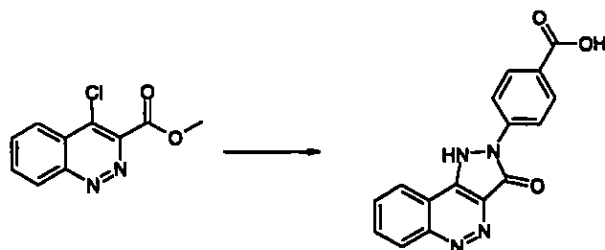
Paso 4: Preparación del 4-clorocinnolin-3-carboxilato de metilo:



El cloruro de tionilo (8.15 g, 5 ml) se adicionó gota a gota bajo una atmósfera inerte al 4-hidroxycinnolin-3-carboxilato de metilo (0.50 g, 2.45 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1.5 horas, se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se removi6 bajo vacío. Se adicionó tolueno (5 ml) al residuo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Los sólidos se colectaron

mediante la filtración y secaron bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un sólido de color café (248 mg, 111 μmol , 45%). CL-EM: m/z 223 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

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



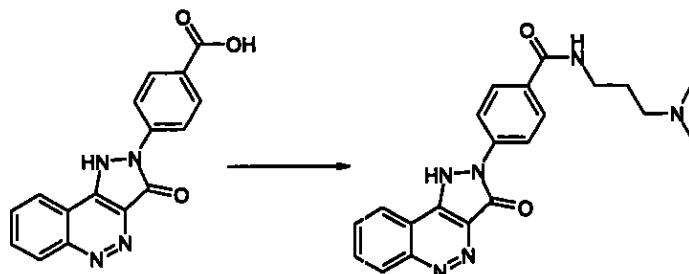
El ácido 4-hidrazinobenzoico (68.4 mg, 0.45 μmol) se mezcló a temperatura ambiente con etanol (5 ml) para proporcionar una suspensión de color crema. Se adicionó 4-clorocinnolin-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0.45 μmol) y la mezcla se calentó a 45-50°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el solvente se removió bajo vacío. El acetato de etilo (10 ml) se adicionó al residuo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los sólidos se colectaron mediante la filtración y secaron bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un polvo de color café (120 mg, 0.39 μmol , 86%). CL-EM: m/z 307 $[\text{M}+\text{H}]^+$. RMN $[\text{DMSO}-d_6]$: δ = 7.69-7.77 (m, 1 H_{arilo}); 7.81-7.90 (m, 2 H_{arilo}); 8.05 (d, J = 8.85, 2 H_{arilo}); 8.20 (d, J = 7.92 Hz, 1 H_{arilo}); 8.33 (d, J = 8.85 Hz, 2 H_{arilo}); 14.64 (s, NH).

Alternativamente, la reacción se puede llevar a cabo a temperatura ambiente. En este caso, se puede requerir un tiempo

de reacción más prolongado de 2-3 horas.

Ejemplo 2

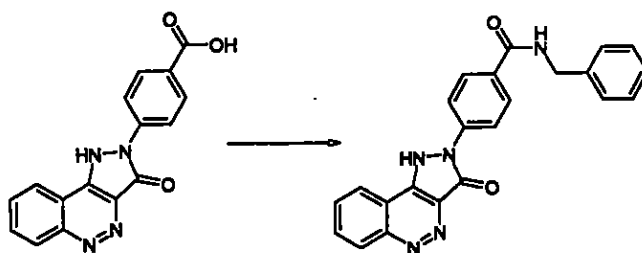
Preparación de N-[(dimetilamino)propil]-4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzamida:



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

Ejemplo 3

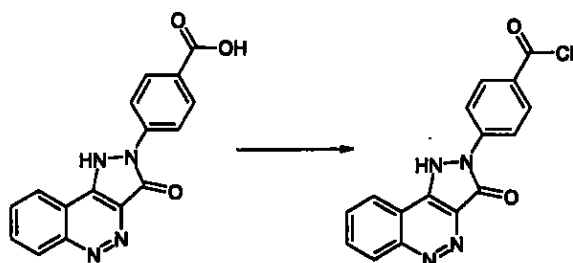
Preparación de la N-bencil-4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzamida:



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

Ejemplo 4

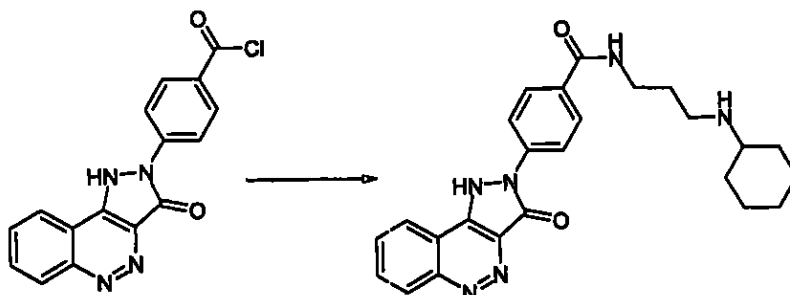
Paso 1: Preparación de cloruro de 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoilo:



El cloruro de tionilo (90 ml) se adicionó al ácido 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo-[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoico (2.36 g, 7.70 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se obtuvo una solución de color rojo oscuro, se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se removió bajo vacío. Se adicionó tolueno (30 ml) a los residuos y la mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno hasta que se completó la precipitación. Los sólidos se colectaron mediante la filtración y se levaron con tolueno (2 x 30 ml). El compuesto del título se

aisló como un sólido de color rojo (2.20 g, 6.77 mmol, 88%) CL-EM: m/z 321 $[M+H]^+$ (éster metílico resultante de la preparación de muestras en metanol).

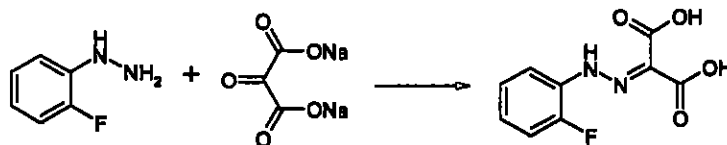
Paso 2: Preparación de la N-[(ciclohexilamino)propil]-4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzamida:



El cloruro de 4-(3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoilo (97 mg, 0.30 mmol) se disolvió en DMA anhidro (2 ml). La diisopropiletilamina (39 mg, 53 μ l, 0.60 mmol) se adicionó seguida por N-ciclohexil-1,3- propandiamina (52 mg, 0.60 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos. Se adicionó agua (5 ml) para proporcionar una suspensión de color rojo oscuro. La mezcla se extrajo con n-butanol (2 x 20 ml). Las fases orgánicas, combinadas se lavaron con agua y se concentraron bajo vacío hasta que se observó la precipitación. Se adicionó hexano (20 ml) y acetato de etilo (10 ml), los sólidos se colectaron mediante la filtración y secaron bajo vacío. El producto se aisló como un polvo de color rojo oscuro (82 mg, 0.18 mmol, 62%). CL-EM: m/z 445 $[M+H]^+$.

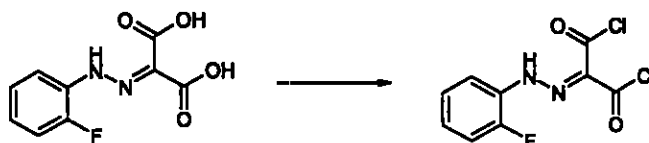
Ejemplo 5:

Paso 1: Preparación del ácido [(2-fluorofenil)-hidrazono]malónico:



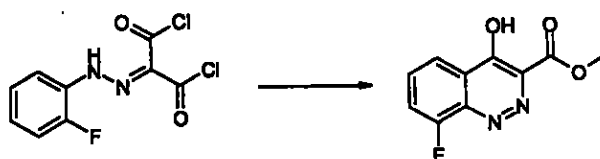
El monohidrato de mesoxalato de sodio (2.21 g, 12.3 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 1 M (50 ml) para proporcionar una solución turbia, incolora. El clorhidrato de 2-fluoro-fenilhidrazina (2.00 g, 12.3 mmol) se adicionó en porciones a temperatura ambiente a la mezcla agitada. Se formó un producto precipitado de color amarillo, la mezcla se diluyó con agua (50 ml) y la agitación continuó durante toda la noche. Se adicionó acetato de etilo (150 ml), las fases se mezclaron vigorosamente hasta se habían disuelto los sólidos. Las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con acetato de etilo (50 ml). Las fases orgánicas, combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y el solvente se removió bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un polvo de color amarillo (2.55 g, 11.7 mmol, 92%). CL-EM: m/z 227 $[M-H]^+$.

Paso 2: Preparación del dicloruro de [(2-fluorofenil)-hidrazono]malonoilo:



El ácido (2-fluorofenilhidrazono)malónico (1.33 g, 5.88 mmol) se mezcló bajo una atmósfera inerte con cloroformo seco (20 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y el pentacloruro de fósforo (2.69 g, 12.9 mmol) se adicionó en porciones. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas para proporcionar una solución de color amarillo oscuro. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo vacío hasta que ocurrió la precipitación. Los sólidos se colectaron mediante la filtración, se lavaron con hexano (30 ml) y secaron bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un polvo de color amarillo (760 mg, 2.89 mmol, 49%).

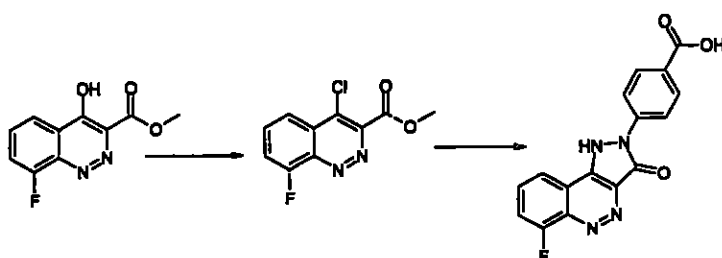
Paso 3: Preparación del 8-fluoro-4-hidroxicinnolin-3-carboxilato de metilo:



El dicloruro de (2-fluorofenilhidrazono)malonoilo (19.4 g, 74 mmol) se mezcló bajo una atmósfera inerte con 1,2-dicloroetano (100 ml) para proporcionar una suspensión de color amarillo. El tetracloruro de titanio (13.9 g, 8.08 ml, 74 mmol) se adicionó gota a gota para formar una solución de color café. La mezcla se calentó a reflujo durante toda la noche. Se agregó tetracloruro de titanio adicional (13.9 g, 8.08 ml, 74 mmol) y el calentamiento continuó durante 24

horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0-5°C y se enfrió rápidamente gota a gota con metanol (50 ml). La agitación continuó durante 1 hora a temperatura ambiente y los productos volátiles se removieron bajo vacío. Se adicionó agua (300 ml) y la suspensión obtenida se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas, combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron bajo vacío. Se obtuvo un sólido de color amarillo (12 g de producto crudo). CL-EM: m/z 223 $[M+H]^+$.

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

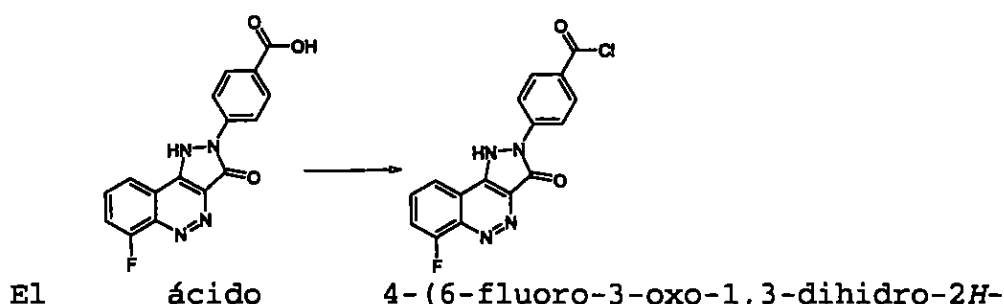


El 8-fluoro-4-hidroxycinnolin-3-carboxilato crudo de la etapa previa (1.00 g, 4.95 mmol) se disolvió en cloruro de tionilo (50 ml). La solución se calentó a reflujo durante 2-3 horas hasta que no se observó una emisión de gas adicional. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se removió bajo vacío. El producto intermediario, crudo se sometió a la destilación azeotrópica con tolueno (3 x 25 ml). Se obtuvo un sólido de color café oscuro, el cual se tomó en etanol (25 ml). Se adicionó ácido 4-hidrazinobenzoico (640 mg, 4.21 mmol) y la

mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Los sólidos se colectaron mediante la filtración, se mezclaron espesamente en HCl 1 M (100 ml), se filtraron, se lavaron con hexano (50 ml) y secaron bajo vacío. Se obtuvo un sólido de color café (890 mg de producto crudo). CL-EM: m/z $[M+H]^+$ 325.

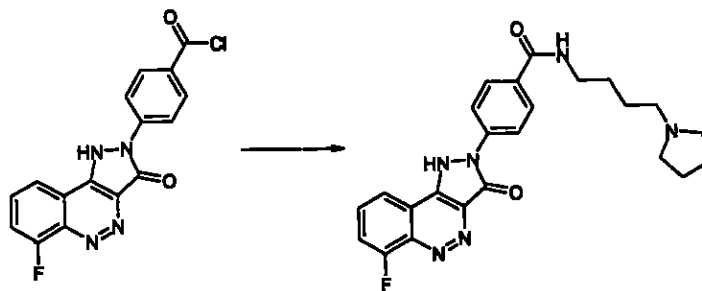
Ejemplo 6

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



pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-benzoico crudo (1.45 g) de la etapa previa se disolvió en cloruro de tionilo (50 ml). La mezcla se calentó a 70°C durante 2-3 horas hasta que no se observó una emisión de gas adicional. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se removió bajo vacío. Los residuos se sometieron a la destilación azeotrópica con tolueno (2 x 20 ml) para proporcionar un sólido. El sólido se colectó mediante la filtración, se lavó con tolueno y secó bajo vacío. El producto se aisló como un polvo de color amarillo (670 mg, 1.95 mmol). CL-EM: m/z $[M+H]^+$ 339 (éster metílico resultante de la preparación de muestras en metanol).

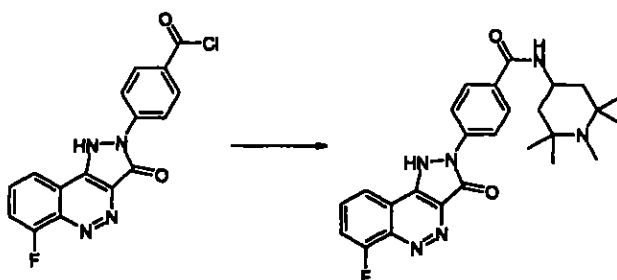
Paso 2: Preparación de la 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(pirrolidin-1-il-butil)benzamida:



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

Ejemplo 7

Preparación de la 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(1,2,2,6,6-pentametilpiperidin-4-il)benzamida:

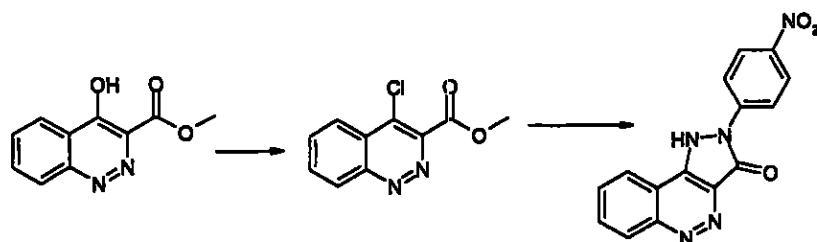


11e

El cloruro de 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)benzoilo (100 mg, 0.29 mmol) se disolvió en DMA anhidro (2 ml). La diisopropiletilamina (75 mg, 101 μ l, 0.58 mmol) se adicionó seguida por 4-amino-1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (49 mg, 0.29 mmol). La mezcla se agitó durante toda la noche. Se adicionó agua (5 ml) y n-butanol (5 ml). Las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (2 x 5 ml) y la solución se concentró bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un sólido de color rojo oscuro (50 mg, 0.105 mmol, 36%). CL-EM: m/z $[M+H]^+$ 477.

Ejemplo 8

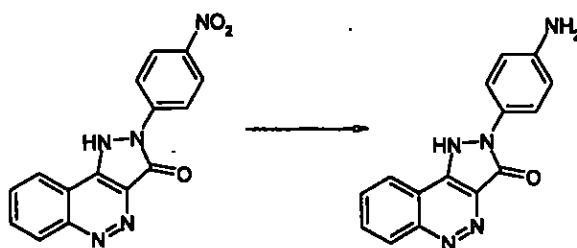
Paso 1: Preparación de la 2-(4-nitrofenil)-1,2-dihidro-3H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-3-ona



El cloruro de tionilo (326 g, 200 ml) se adicionó gota a gota bajo una atmósfera inerte al 4-hidroxycinnolin-3-carboxilato de metilo (10.0 g, 49 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 2.5 horas, se enfrió a temperatura ambiente y el exceso de cloruro de tionilo se removi6 bajo vacío. Se adicionó tolueno (100 ml) al residuo y se removi6 bajo vacío. Este procedimiento se repiti6 con tolueno adicional (100 ml). Se obtuvo un material semi-sólido de color café y se tomó en

etanol (200 ml). La 4-nitrofenilhidrazina (5.99 g, 39.2 mmol) se adicionó en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se calentó a 40-45°C durante 1 hora y se enfrió a temperatura ambiente. Los sólidos se colectaron mediante la filtración, se trituraron con etanol (100 ml) y secaron bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un sólido de color café (8.42 g, 27.4 mmol, 70%). CL-EM: m/z 308 $[M+H]^+$.

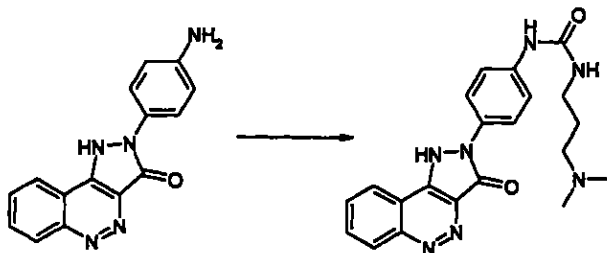
Paso 2: Preparación de la 2-(4-aminofenil)-1,2-dihidro-3H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-3-ona



La 2-(4-nitrofenil)-1,2-dihidro-3H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-3-ona (11.4 g, 37.2 mmol) se suspendió en una mezcla de etanol (100 ml) y agua (100 ml). Se adicionó polvo de hierro (11.1 g, 200 mmol) y cloruro de amonio (5.34 g, 100 mmol). La mezcla se calentó a 80°C durante toda la noche, se enfrió a temperatura ambiente y se basificó con carbonato de potasio a pH 9-10. Los sólidos se removieron mediante la filtración a través de una almohadilla de Celite^{MR}. El producto filtrado se extrajo con n-butanol (2 x 200 ml). Las fases orgánicas, combinadas se concentraron bajo vacío para proporcionar un sólido de color rojo oscuro. El sólido se

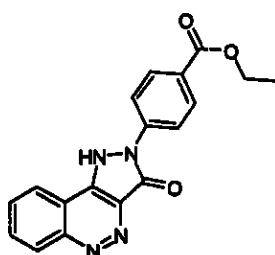
trituro con metanol (100 ml), se filtró y se secó bajo vacío. El compuesto del título se aisló como un polvo de color rojo oscuro (5.58 g, 20.1 mmol, 57%). CL-EM: m/z 278 $[M+H]^+$.

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



La 2-(4-aminofenil)-1,2-dihidro-3*H*-pirazolo[4,3-*c*]cinnolin-3-ona (44 mg, 0.16 mmol) se suspendió en tolueno bajo una atmósfera de nitrógeno (0.5 ml) a 0-5°C. Se adicionó DMA (0.5 ml) seguida por *N,N'*-carbonildiimidazol (26 mg, 0.16 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora a 0-5°C antes de mezclarse con una solución de 3-dimetilaminopropilamina (18 mg, 0.18 mmol) en tolueno (0.5 ml). La agitación continuó durante 1 hora y el producto se purificó mediante la CLAR preparativa. El compuesto del título se aisló como un polvo de color rojo oscuro (2.6 mg, 6 μ mol, 4%). CL-EM: m/z 406 $[M+H]^+$.

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



El compuesto del título se preparó por medio del método del ejemplo 1 paso 5, sustituyendo el éster etílico del ácido 4-hidrazinobenzoico por el ácido precursor. EM: MH⁺ = 335.2.

Resultados

El uso del análisis de interacción biomolecular BIAcore

La molécula CD80 humana, biotinilada (hCD80-BT) es una forma soluble, recombinante de una molécula receptora unida a la membrana (CD80), la cual se une a CD28 para iniciar la activación de las células T. La interacción entre CD80 y CD28 se ha investigado extensivamente (Collins y colaboradores, 2002). La molécula HLA-A2-tax humana, biotinilada es la forma soluble, recombinante de una molécula receptora unida a la membrana que se ha utilizado en este ejemplo como una proteína de control y no se espera que interactúe con los compuestos.

El sistema BIAcore S51^{MR} se utilizó para examinar los compuestos de los ejemplos 1-4 anteriores. Un microcircuito sensor serie S^{CM5} se acopló sobre el sistema BIAcore S51^{MR}. La estreptavidina se acopló a la superficie de carboximetilo utilizando el acoplamiento de amina estándar. La superficie del microcircuito se activó con EDC 0.2 M/NHS 0.05 M, seguido por la unión de estreptavidina (0.25 mg/ml en acetato de sodio 10 mM, pH 5.0) y la saturación con etilendiamina 1 M de los sitios vacíos.

El microcircuito sensor BIAcore S51 tiene dos manchas sensoras, separadas para la inmovilización de proteínas. La molécula hCD80-BT se inmovilizó sobre la superficie revestida con estreptavidina de una mancha sensora hasta que se observó una respuesta de aproximadamente 3000 RU. Una proteína para controlar la unión no específica del compuesto se inmovilizó sobre una segunda mancha sensora. La proteína de control utilizada para estos experimentos fue una forma soluble, biotinilada de la proteína HLA humana.

Las series de diluciones de los compuestos (1000 nM-0.05 nM) se prepararon en un amortiguador de conducción (10 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM, P20 al 0.005%; DMSO al 5%).

El sistema BIAcore S51^{MR} se condujo a una velocidad de flujo de 30 μ l/minuto utilizando el amortiguador de conducción. Los compuestos y las soluciones estándar de DMSO para la corrección de datos para los efectos del solvente se inyectaron. Los datos se registraron automáticamente y se analizaron utilizando el programa para computadora BIAcore S51 Evaluation.

La interacción entre CD80 y el ligando de proteína endógeno (CD28) es altamente específica, pero relativamente débil, con un valor K_D de 4750 nM y una constante de disociación mayor que 0.2 s⁻¹. Los compuestos de los ejemplos 2, 3, 4, 6, 7 tienen mayor afinidad y tiempos de residencia más prologados sobre CD80 que CD28, teniendo valores K_D

112

menores que 100 nM, y constantes de disociación de 2×10^{-2} , indicando que la cinnolinas serán capaces de competir de manera efectiva con el ligando endógeno. Las cinnolinas no mostraron una interacción detectable con la proteína de control.

Referencias

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

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

Método

Las células Raji humanas se suministraron a una concentración de 2×10^5 células por pocillo en medio RPMI-1640 complementado con suero bovino fetal al 10%, penicilina al 1%/estreptomicina, glutamina al 1% (medio RPMI) en una placa de microtítulo de fondo redondo de 96 pocillos. Los compuestos bajo investigación (disueltos en DMSO al 100%) se diluyeron en ocho partes de la concentración final, deseada en medio RPMI y se adicionaron a la concentración final, requerida para un volumen total de 200 μ l por pocillo. Después de 20 minutos de incubación a 37°C, las células T Jurkat se adicionaron a una concentración de 2×10^5 células por pocillo. El anticuerpo monoclonal para CD3 (UCHT1, R&D Systems) se adicionó a los cultivos en una concentración final de 1 μ g por ml, y donde se indicó, el anticuerpo monoclonal para CD28 (CD28.2, BD-

118

Pharmingen) también se adicionó a una concentración de 2.5 µg por ml. Las células se cultivaron a 37°C durante 5 horas, después de lo cual las placas se centrifugaron y los sobrenadantes se recolectaron para el ensayo ELISA de IL-2 utilizando el equipo IL-2 Eli-pair (DIACLONE Research, Besancon, Francia) de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

A manera de ejemplo, el compuesto del ejemplo 2 (AV1142005) proporcionó 65% de inhibición a 30 µM.

Ensayo de Fluorescencia de Resolución Temporal, Homogénea

Los ejemplos descritos anteriormente se sometieron a prueba en un ensayo de fluorescencia de resolución temporal, homogénea libre de células (HTRF, por sus siglas por inglés) para determinar su actividad como inhibidores de la interacción de CD80-CD28.

En el ensayo, el europio y la aloficocianina (APC) se asociaron con CD28 y CD80 indirectamente (a través de conectores de anticuerpos) para formar un complejo, el cual pone al europio y la APC en proximidad estrecha para generar una señal. El complejo comprende las siguientes seis proteínas: etiqueta fluorescente 1, anticuerpo conector 1, proteína de fusión CD28, proteína de fusión CD80, anticuerpo conector 2 y etiqueta fluorescente 2. La tabla posterior describe estos reactivos en detalle general.

Etiqueta fluorescente 1	IgG anticonejo etiquetada con Europio (1 µg/ml)
Anticuerpo conector 1	IgG de conejo específica para el fragmento Fc de ratón (3 µg/ml)
Proteína de fusión CD28	Proteína de fusión del fragmento Fc de ratón - CD18 (0.48 µg/ml)
Proteína de fusión CD28	Proteína de fusión del fragmento Fab de ratón - CD80 (C215) (1.9 µg/ml)
Anticuerpo conector 2	GαMκ-biotina: IgG de cabra biotinilada específica para la cadena kappa de ratón (2 µg/ml)
Etiqueta fluorescente 2	SA-APC: alofococianina etiquetada con estreptavidina (8 µg/ml)

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

La interacción no específica se midió al sustituir un fragmento Fab de ratón (C215) por la proteína de fusión del fragmento Fab de ratón CD80 (1.9 µg/ml). El ensayo se llevó a cabo en placas negras de 384 pocillos en un volumen final de 30 µl. El amortiguador de ensayo: Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.8, que contenía BSA al 0.1% (p/v) se adicionó justo antes del uso.

Los compuestos se adicionaron a los reactivos anteriores en una serie de concentraciones que varían entre 100 µM - 1.7 nM. La reacción se incubó durante 4 horas a temperatura ambiente. Las mediciones dobles se hicieron utilizando un Contador de Multietiquetas Wallac Victor 1420. Primera medición: excitación 340 nm, emisión 665 nm, retraso 50 µs, tiempo de ventana 200 µs. Segunda medición: excitación 340 nm, emisión 615 nm, retraso 50 µs, tiempo de ventana 200

μs. Los conteos se corrigieron automáticamente por la convergencia, extinción y fondo de la fluorescencia. Las actividades EC50 de los compuestos sometidos a prueba se registran como:

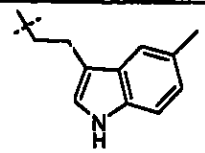
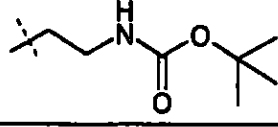
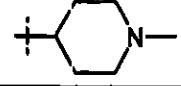
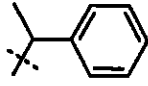
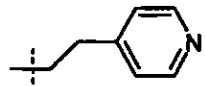
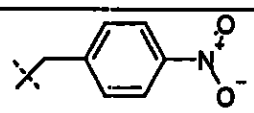
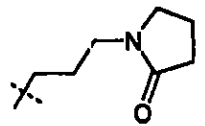
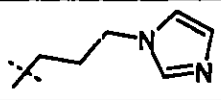
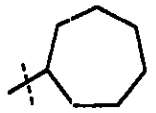
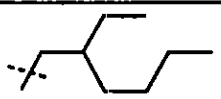
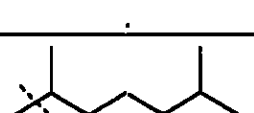
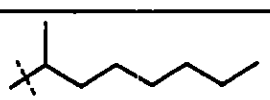
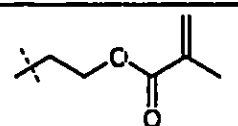
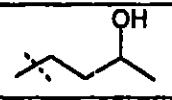
EC50: * = > 10 μM, ** = 1-10 μM, *** = < 1 μM.

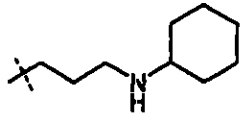
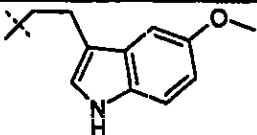
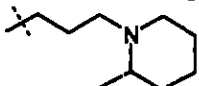
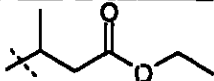
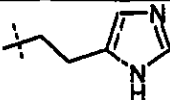
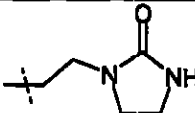
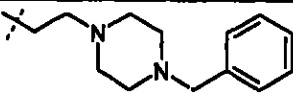
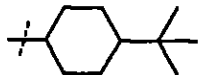
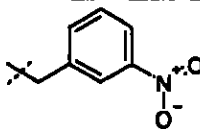
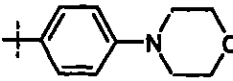
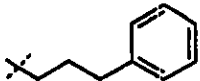
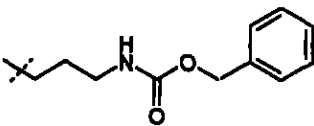
Los compuestos de los ejemplos 1 a 8 tuvieron las siguientes actividades en el ensayo HTRF descrito anteriormente:

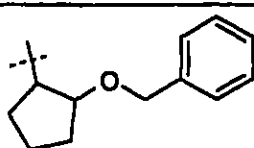
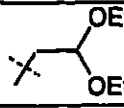
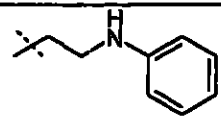
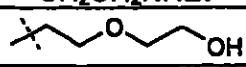
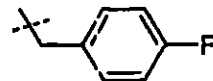
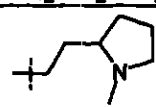
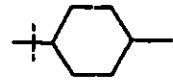
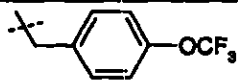
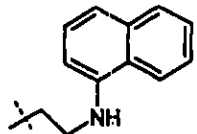
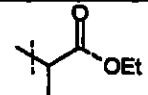
Ejemplo 1 *
Ejemplo 2 ***
Ejemplo 3 ***
Ejemplo 4 ***
Ejemplo 5 *
Ejemplo 6 ***
Ejemplo 7 ***
Ejemplo 8 ***
Ejemplo 9 **

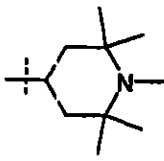
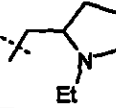
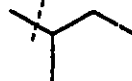
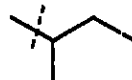
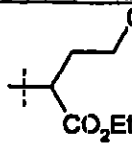
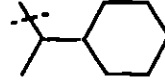
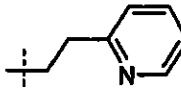
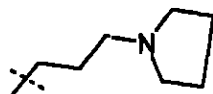
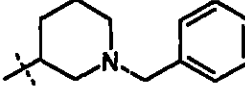
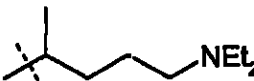
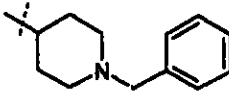
Ejemplos Adicionales

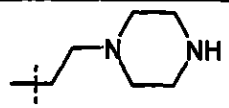
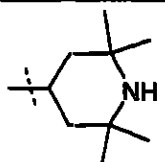
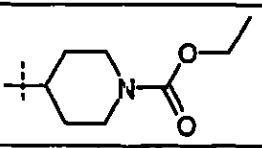
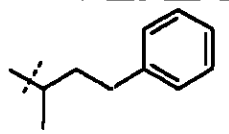
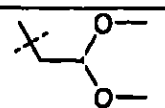
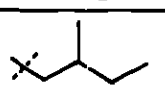
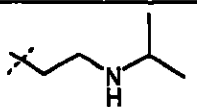
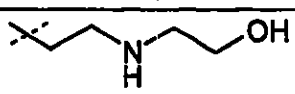
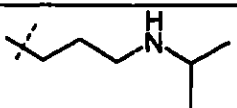
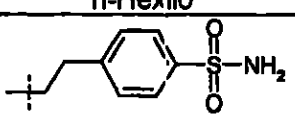
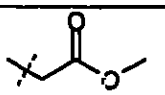
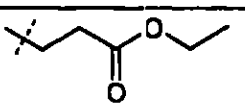
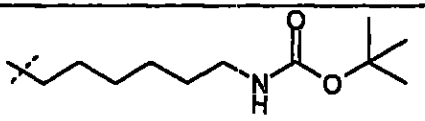
Los ejemplos adicionales de los compuestos de la invención se sintetizaron por medio de métodos análogos a aquellos de los ejemplos 1-8 anteriores. Las estructuras de los compuestos sintetizados se muestran en la siguiente tabla, junto con sus actividades en el ensayo HTRF descrito anteriormente.

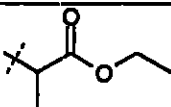
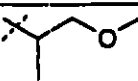
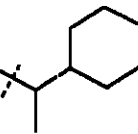
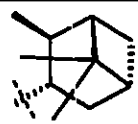
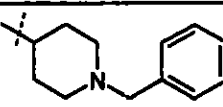
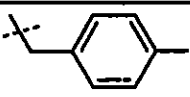
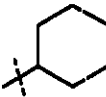
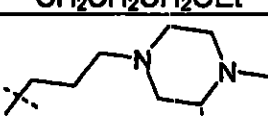
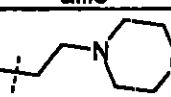
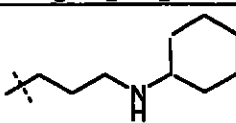
16.	H	-		H	463.0	*
17.	H	-		H	448.8	**
18.	H	-		H	403.1	***
19.	H	-		H	410.0	*
20.	H	-		H	411.0	***
21.	H	-		H	441.2	**
22.	H	-		H	431.1	**
23.	H	-		H	414.1	***
24.	H	-		H	402.2	**
25.	H	-		H	418.4	*
26.	H	-		H	418.2	***
27.	H	-		H	418.2	*
28.	H	-		H	417.9	**
29.	H	-		H	378.0	***

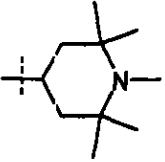
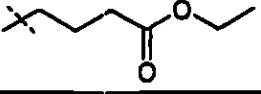
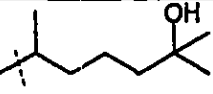
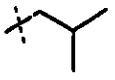
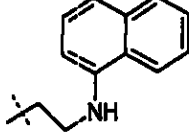
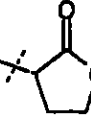
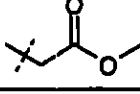
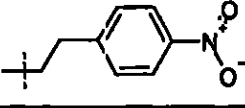
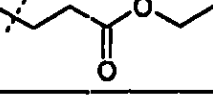
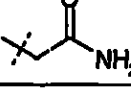
30.	H	-		H	445.2	***
31.	H	-		H	479.0	**
32.	H	-		H	445.2	***
33.	H	-		H	376.2	**
34.	H	-		H	420.0	**
35.	H	-		H	400.0	**
36.	H	-		H	418.0	*
37.	H	-		H	508.1	***
38.	H	-		H	444.2	*
39.	H	-		H	441.1	**
40.	H	-		H	467.2	**
41.	H	-		H	424.1	**
42.	H	-		H	496.9	**
43.	H	-		H	404.1	**

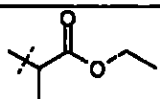
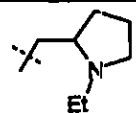
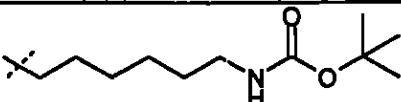
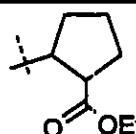
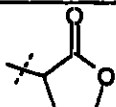
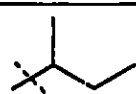
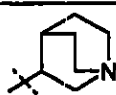
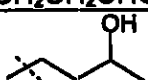
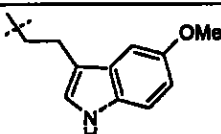
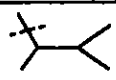
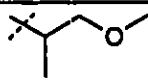
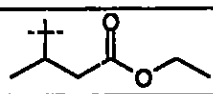
44.	H	-		H	480.0	*
45.	H	-		H	421.8	**
46.	H	-	Et	H	334.2	***
47.	H	-		H	425.0	***
48.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	363.0	***
49.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	377.1	***
50.	H	-		H	394.2	**
51.	H	-	CH ₂ CH ₂ OH	H	350.2	***
52.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	377.2	***
53.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OIPr	H	406.2	***
54.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	377.2	***
55.	H	-		H	390.2	***
56.	H	-		H	414.1	**
57.	H	-		H	388.2	**
58.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	475.2	***
59.	H	-	ciclododecilo	H	472.2	*
60.	H	-	CH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	405.1	***
61.	H	-		H	417.2	***
62.	H	-		H	402.2	**
63.	H	-	CH ₂ CH ₂ OPh	H	426.0	**
64.	H	-		-H	480.2	**
65.	H	-		H	475.2	**
66.	H	-		H	406.1	**

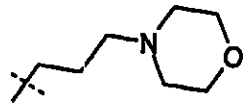
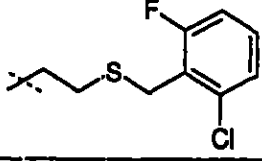
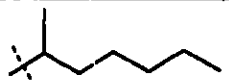
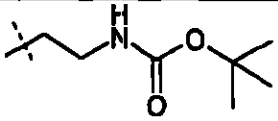
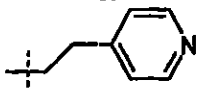
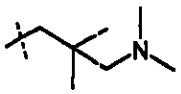
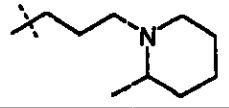
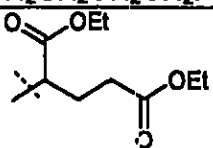
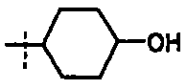
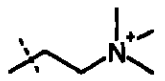
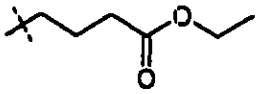
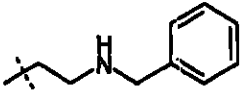
67.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OnBu}$	H	420.0	***
68.	H	-		H	459.3	***
69.	H	-		H	417.3	***
70.	H	-	 (isómero R)	H	362.3	***
71.	H	-	 (isómero S)	H	362.3	***
72.	H	-	$\text{CH}(\text{Et})_2$	H	376.3	**
73.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$	H	438.4	**
74.	H	-		H	492.2	**
75.	H	-		H	416.3	**
76.	H	-		H	411.2	**
77.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SEt}$	H	394.2	***
78.	H	-	Ciclopropilo	H	346.2	**
79.	H	-		H	417.3	***
80.	H	-		H	479.3	***
81.	H	-		H	447.2	***
82.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$	H	376.2	**
83.	H	-	ciclopentilo	H	374.2	**
84.	H	-	nPropilo	H	348.2	**
85.	H	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{tBu}$	H	390.3	**
86.	H	-		H	479.3	***
87.	H	-	$\text{CH}_2\text{cicloheptilo}$	H	416.4	*

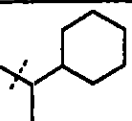
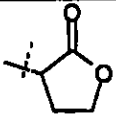
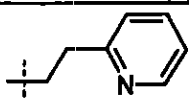
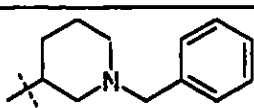
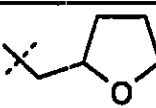
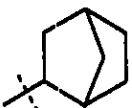
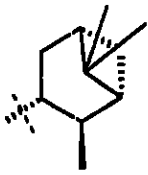
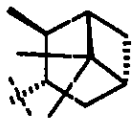
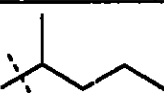
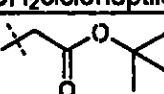
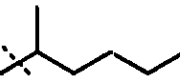
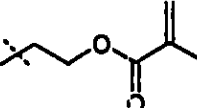
102.	H	-		H	418.4	**
103.	H	-		H	445.4	***
104.	H	-		H	461.4	**
105.	H	-		H	438.4	*
106.	H	-		H	394.3	**
107.	H	-		H	376.3	**
108.	H	-		H	391.4	***
109.	H	-		H	393.4	***
110.	H	-		H	405.5	***
111.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	364.4	**
112.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	392.4	***
113.	H	-	n-Hexilo	H	390.4	**
114.	H	-		H	489.4	**
115.	H	-		H	378.4	**
116.	H	-		H	406.4	*
117.	H	-		H	505.5	**

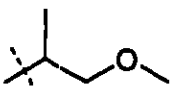
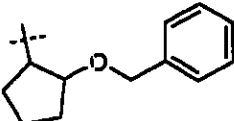
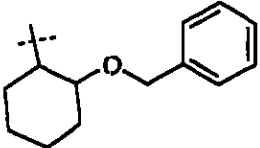
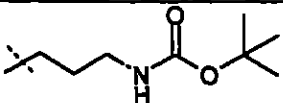
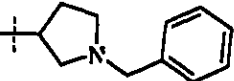
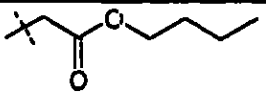
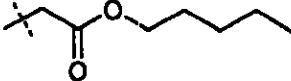
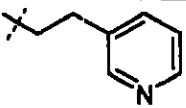
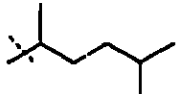
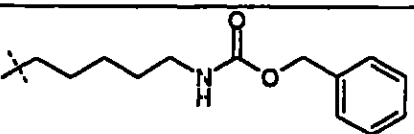
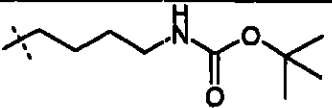
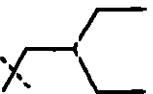
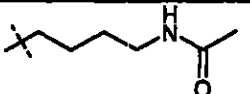
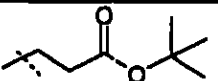
118.	H	-		H	406.4	**
119.	H	-		H	378.4	**
120.	H	-		H	416.4	**
121.	H	-		H	442.4	**
122.	H	-		H	442.4	*
123.	H	NH		H	494.3	**
124.	H	NH		H	405.3	*
125.	H	NH		H	432.3	**
126.	H	NH		H	429.3	*
127.	H	NH		H	403.3	*
128.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OEt	H	407.2	**
129.	H	NH		H	461.3	***
130.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	392.2	***
131.	H	NH	alilo	H	361.3	***
132.	H	NH		H	434.3	***
133.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OMe	H	393.2	**
134.	H	NH		H	460.3	***

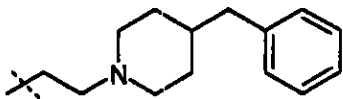
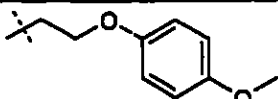
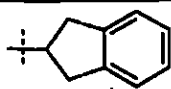
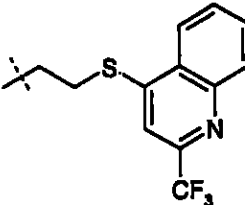
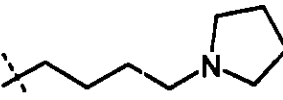
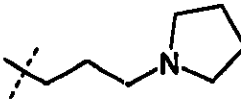
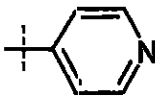
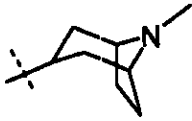
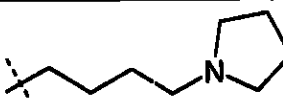
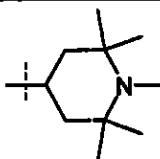
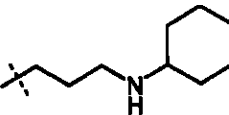
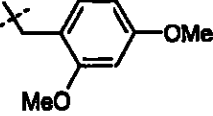
135.	H	NH		H	474.3	**
136.	H	NH		H	420.1	*
137.	H	NH		H	449.2	**
138.	H	NH		H	377.3	**
139.	H	NH	iPr	H	363.3	**
140.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OMe	H	379.3	**
141.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	406.2	***
142.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	378.2	***
143.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHEt	H	392.2	***
144.	H	NH	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	406.2	***
145.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	H	408.2	***
146.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OH	H	365.2	***
147.	H	NH	CH ₂ CH ₂ Ph	H	425.3	**
148.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHiPr	H	420.2	***
149.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OiPr	H	421.2	**
150.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	379.2	***
151.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	407.2	**
152.	H	NH		H	490.1	*
153.	H	NH		H	405.3	**
154.	H	NH		H	393.1	**
155.	H	NH		H	470.3	**
156.	H	NH		H	421.2	**
157.	H	NH		H	378.1	**

158.	H	NH		H	421.1	**
159.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OC ₁₂ H ₂₅	H	547.3	***
160.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OnBu	H	435.2	*
161.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ SMe	H	409.2	**
162.	H	NH		H	432.3	***
163.	H	NH		H	519.9	**
164.	H	NH		H	461.2	*
165.	H	NH		H	375.2	**
166.	H	NH		H	405.2	**
167.	H	NH		H	377.3	**
168.	H	NH		H	462.4	***
169.	H	NH		H	430.3	***
170.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CHO	H	377.2	*
171.	H	NH		H	393.3	***
172.	H	NH		H	494.3	**
173.	H	NH		H	391.3	**
174.	H	NH		H	393.2	**
175.	H	NH		H	435.2	**
176.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	419.4	***

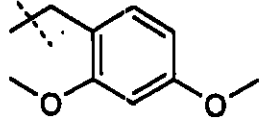
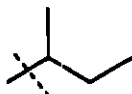
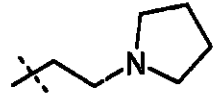
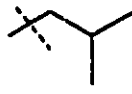
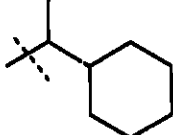
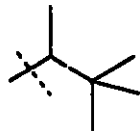
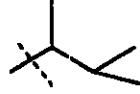
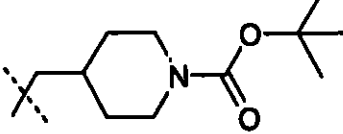
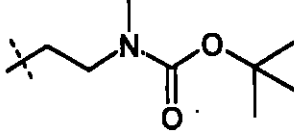
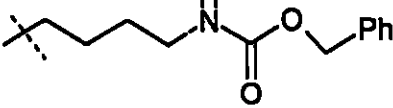
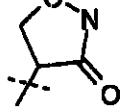
177.	H	NH	nBu	H	377.4	**
178.	H	NH	CH ₂ CH ₂ SMe	H	395.3	**
179.	H	NH		H	448.4	***
180.	H	NH		H	523.3	*
181.	H	NH		H	419.4	*
182.	H	NH		H	464.3	**
183.	H	NH		H	418.4	***
184.	H	NH		H	426.3	**
185.	H	NH		H	434.4	***
186.	H	NH		H	460.4	***
187.	H	NH	CH(Et) ₂	H	391.4	**
188.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph	H	453.4	*
189.	H	NH		H	507.5	**
190.	H	NH		H	419.4	**
191.	H	NH		H	406.4	??
192.	H	NH		H	435.4	*
193.	H	NH		H	454.5	***

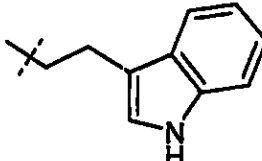
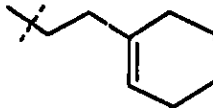
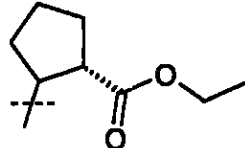
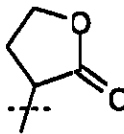
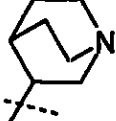
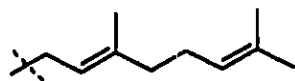
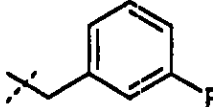
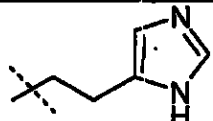
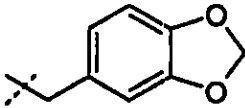
194.	H	NH		H	431.5	*
195.	H	NH		H	405.4	**
196.	H	NH		H	426.4	**
197.	H	NH		H	494.5	**
198.	H	NH		H	405.4	**
199.	H	NH		H	415.5	*
200.	H	NH	CH ₂ CH ₂ SCH ₂ Ph	H	471.4	*
201.	H	NH		H	457.5	*
202.	H	NH		H	457.4	*
203.	H	NH		H	391.4	*
204.	H	NH	CH ₂ cicloheptilo	H	431.5	*
205.	H	NH		H	435.4	*
206.	H	NH	CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	476.5	***
207.	H	NH		H	405.4	**
208.	H	NH	CH ₂ CH ₂ OPh	H	441.4	**
209.	H	NH		H	433.4	*

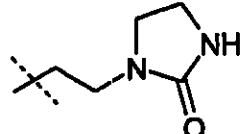
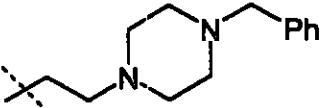
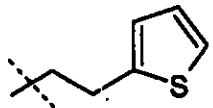
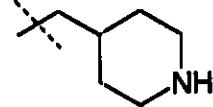
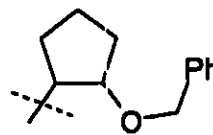
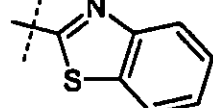
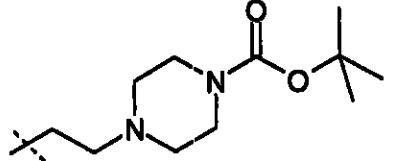
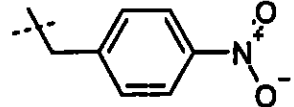
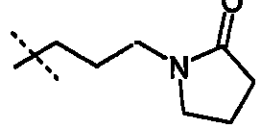
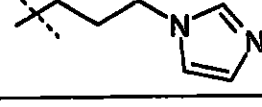
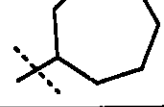
210.	H	NH		H	393.4	***
211.	H	NH		H	495.5	*
212.	H	NH		H	509.4	*
213.	H	NH		H	478.5	**
214.	H	NH		H	480.4	***
215.	H	NH		H	435.4	*
216.	H	NH		H	449.4	*
217.	H	NH		H	426.4	**
218.	H	NH		H	419.5	*
219.	H	NH		H	540.5	**
220.	H	NH		H	492.5	*
221.	H	NH		H	405.5	*
222.	H	NH		H	434.4	***
223.	H	NH		H	449.4	**

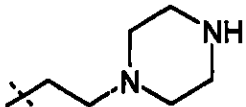
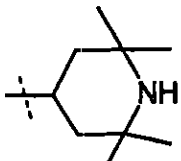
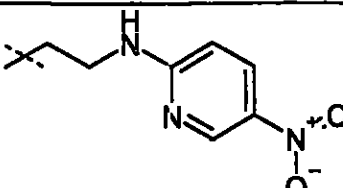
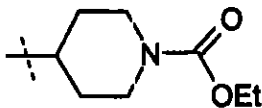
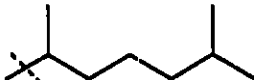
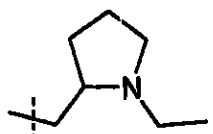
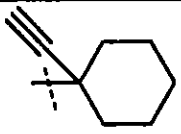
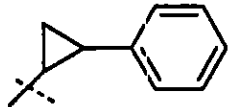
224.	H	NH		H	522.5	***
225.	H	NH		H	471.4	*
226.	H	NH		H	437.4	*
227.	H	NH		H	576.4	*
228.	H	NH		H	446.4	***
229.	H	NH		H	432.4	***
230.	H	NH		H	383.3	*
231.	H	NH		H	429.4	***
232.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NMe ₂	H	409.4	***
233.	6-F	-		H	449.4	***
234.	6-F	-		H	477.4	***
235.	6-F	-		H	463.4	***
236.	H	-		H	456.4	*

237.	H	-		H	439.4	***
238.	H	-		H	390.3	**
239.	H	-	cicloButilo	H	360.4	**
240.	H	-		H	426.4	***
241.	H	-	nEutilo	H	362.4	**
242.	H	-		H	386.4	***
243.	H	-	IPr	H	348.4	***
244.	H	-		H	402.4	**
245.	H	-	nHeptilo	H	404.4	**
246.	H	-	Alilo	H	346.3	***
247.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OMe	H	378.4	***
248.	H	-		H	464.3	*
249.	H	-		H	464.3	*
250.	H	-		H	414.3	***
251.	H	-	nPentilo	H	376.4	*
252.	H	-		H	422.3	*
253.	H	-		H	442.3	*
254.	H	-		H	508.2	*
255.	H	-		H	416.3	*

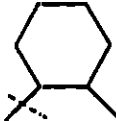
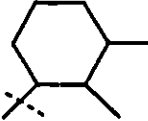
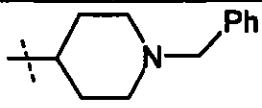
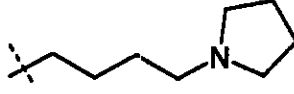
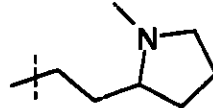
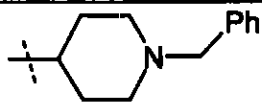
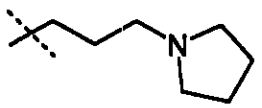
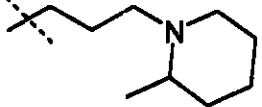
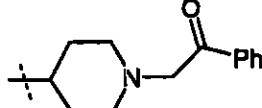
256.	H	-		H	403.4	**
257.	H	-		H	456.4	*
258.	H	-		H	362.3	***
259.	H	-		H		***
260.	H	-		H		**
261.	H	NH		H	431.5	*
262.	H	NH		H	405.4	*
263.	H	NH		H	391.4	**
264.	H	NH		H	518.5	*
265.	H	NH		H		*
266.	H	-		H	511.4	***
267.	H	-		H	391.4	**

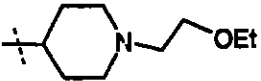
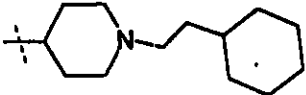
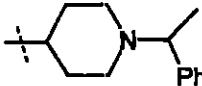
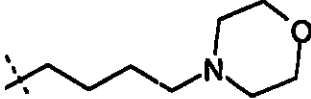
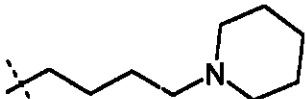
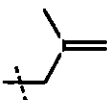
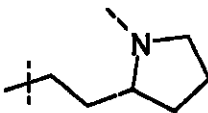
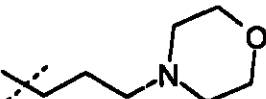
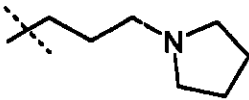
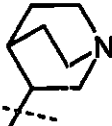
268.	H	-		H	449.4	**
269.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	391.4	***
270.	H	-	CH ₂ CH ₂ Ph	H	410.4	*
271.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	405.4	***
272.	H	-		H	414.4	*
273.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OC ₁₂ H ₂₅	H	532.6	*
274.	H	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ SCH ₃	H	394.4	***
275.	H	-		H	446.4	**
276.	H	-	CH(Et)CH ₂ OCH ₂ Ph	H	468.4	**
277.	H	-		H	390.3	**
278.	H	-		H	415.4	***
279.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHnBu	H	405.4	***
280.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ NEt ₂	H	448.5	***
281.	H	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ Ph	H	439.4	***
282.	H	NH	Et	H	349.4	***
283.	H	NH		H	457.4	*
284.	H	NH		H	429.3	*
285.	H	NH		H	415.3	***
286.	H	NH		H	455.3	*

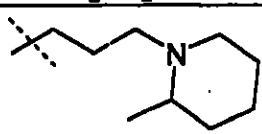
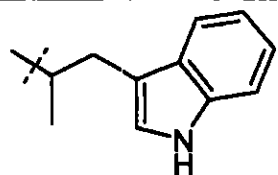
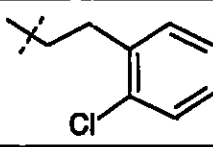
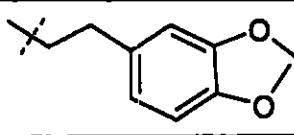
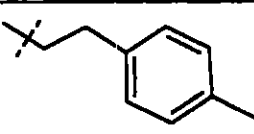
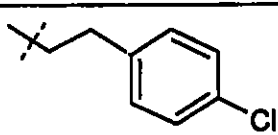
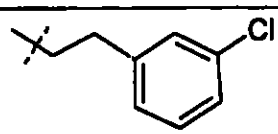
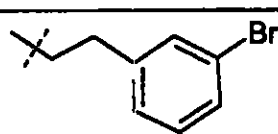
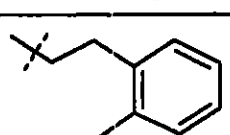
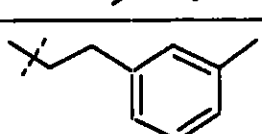
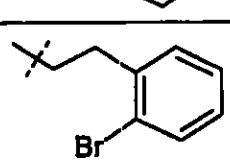
287.	H	NH		H	433.4	***
288.	H	NH		H	522.5	***
289.	H	NH		H	431.3	**
290.	H	NH		H	418.4	***
291.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ Ph	H	439.4	*
292.	H	NH		H	495.4	*
293.	H	NH		H	454.3	*
294.	H	NH		H	533.5	**
295.	H	NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHCH ₃	H	392.4	***
296.	H	NH		H	456.4	*
297.	H	NH		H	446.4	**
298.	H	NH		H	429.4	***
299.	H	NH		H	417.5	*

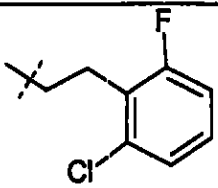
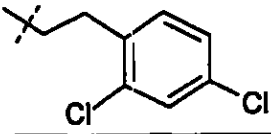
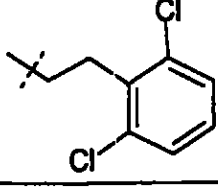
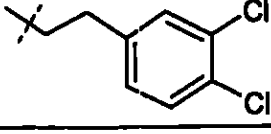
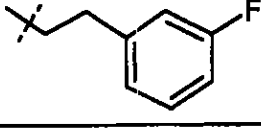
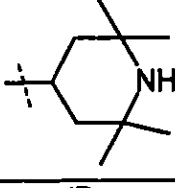
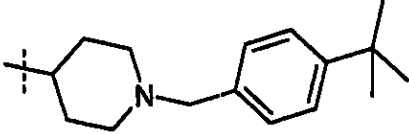
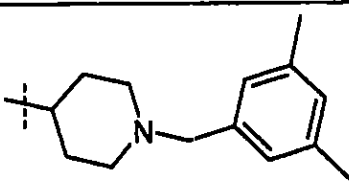
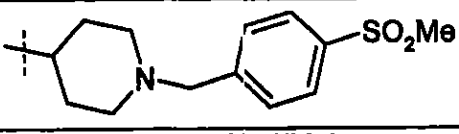
300.	H	NH		H	433.5	***
301.	H	NH		H	460.5	***
302.	H	NH		H	486.4	*
303.	H	NH		H	476.4	*
304.	H	NH	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ Ph	H	453.4	*
305.	H	NH		H	433.5	*
306.	H	NH	CH ₂ CH(OMe) ₂	H	409.4	***
307.	H	NH	CH ₂ CH(OEt) ₂	H	437.5	**
308.	H	NH	CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	391.4	**
309.	H	NH	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	377.4	**
310.	H	NH		H	432.4	***
311.	H	-	CH ₂ CHF ₂	H	370.4	***
312.	H	-	CH ₂ CH ₂ CF ₃	H	402.4	***
313.	H	-		H	440.5	**
314.	H	-		H	412.5	***
315.	H	-		H	422.5	**

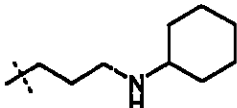
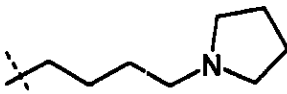
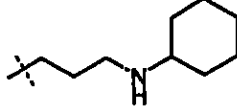
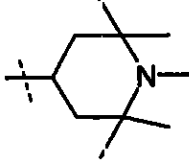
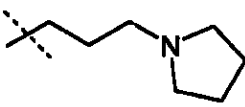
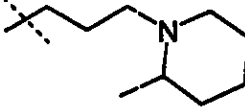
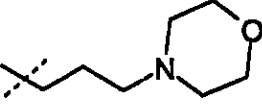
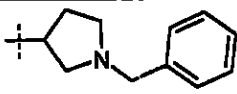
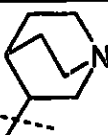
140

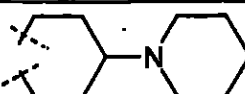
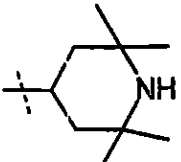
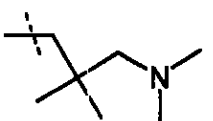
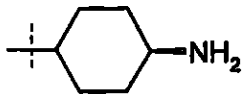
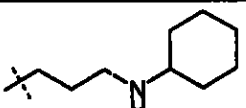
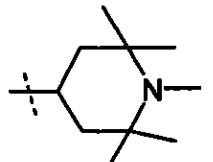
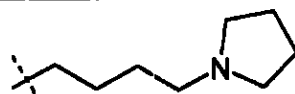
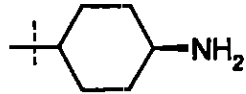
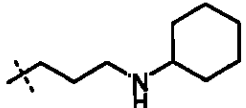
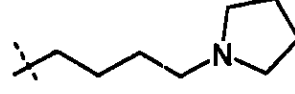
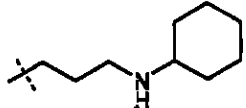
316.	H	-		H	402.5	**
317.	H	-		H	416.5	**
318.	H	-		H	442.5	***
319.	H	-	$t\text{Bu}$	H	362.5	***
320.	H	-	$\text{CH}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$	H	392.5	*
321.	H	-	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	H	376.5	***
322.	H	-	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	H	390.5	***
323.	6-F	-		H	497.6	***
324.	6-F	NH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	H	410.5	***
325.	8-F	-		H	449.3	***
326.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	423.3	***
327.	8-F	-		H	435.3	***
328.	8-F	-		H	497.3	***
329.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Bu})_2$	H	493.4	***
330.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	437.3	***
331.	8-F	-		-	435.5	***
332.	8-F	-		H	463.3	***
333.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_3$	H	378.2	***
334.	6-F	-		H	525.3	***

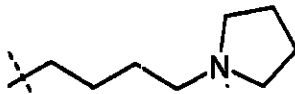
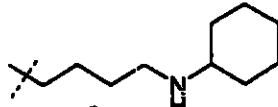
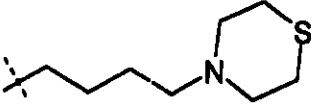
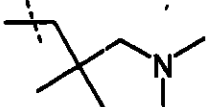
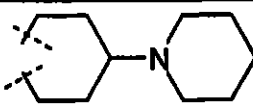
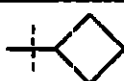
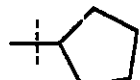
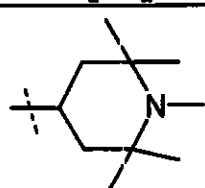
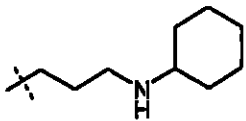
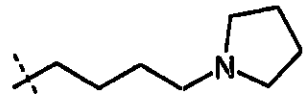
335.	6-F	-		H	479.3	***
336.	6-F	-		H	517.4	***
337.	6-F	-		H	511.3	***
338.	H	-		H	447.3	***
339.	H	-		H	445.3	***
340.	6-F	-		H	378.2	***
341.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHnPr	H	409.3	***
342.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	H	423.3	***
343.	6-F	-		H	435.3	***
344.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHnBu	H	423.3	***
345.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(nBu) ₂	H	493.4	***
346.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	H	437.3	***
347.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ Ph	H	457.3	***
348.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHPr	H	423.3	***
349.	6-F	-		H	421.3	***
350.	6-F	-		H	451.3	***
351.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂	H	395.3	***
352.	6-F	-		H	435.3	***
353.	6-F	-		H	433.3	***
354.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OnBu	H	438.3	***
355.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	395.3	***

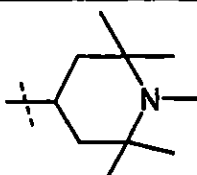
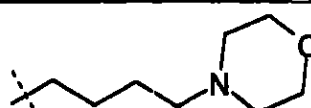
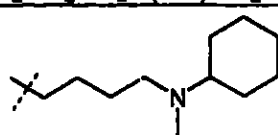
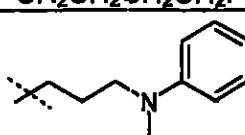
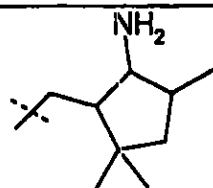
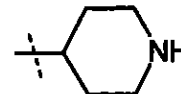
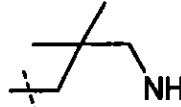
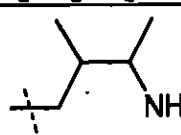
356.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHMe	H	381.3	***
357.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ NHt	H	395.3	***
358.	6-F	-		H	463.4	***
359.	6-F	-		H	481.3	***
360.	6-F	-		H	462.2	**
361.	6-F	-		H	488.3	***
362.	6-F	-		H	442.3	**
363.	6-F	-		H	462.2	**
364.	6-F	-		H	462.2	**
365.	6-F	-		H	506.2, 508.2	*
366.	6-F	-		H	442.3	**
367.	6-F	-		H	442.3	**
368.	6-F	-		H	506.2, 508.2	**

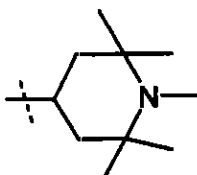
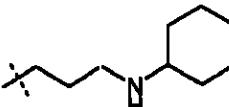
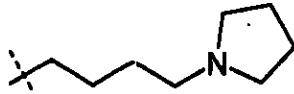
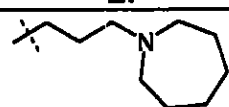
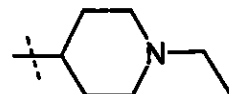
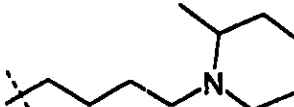
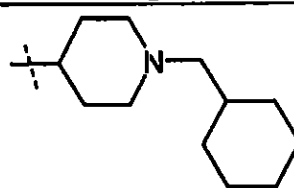
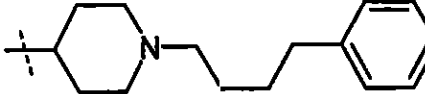
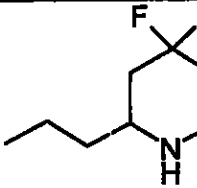
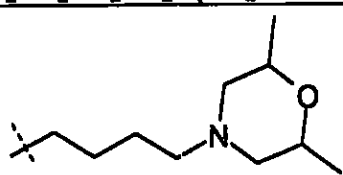
369.	6-F	-		H	480.2	**
370.	6-F	-		H	496.2	**
371.	6-F	-		H	496.2	**
372.	6-F	-		H	496.2	**
373.	6-F	-		H	446.3	**
374.	6-F	-		H	463.3	***
375.	6-F	-	tBu	H	380.3	***
376.	6-F	-	CH ₂ CHF ₂	H	388.2	***
377.	6-F	-	CH ₂ CH=CH ₂	H	364.2	***
378.	6-F	-		H	553.4	***
379.	6-F	-		H	524.4	**
380.	6-F	-		H	575.3	***
381.	8-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(Me) ₂	H	409.3	***

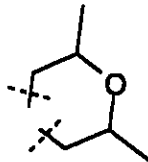
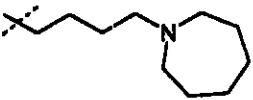
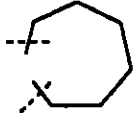
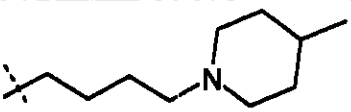
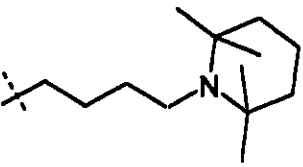
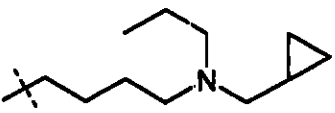
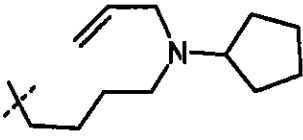
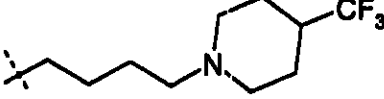
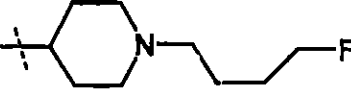
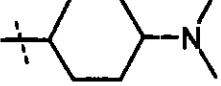
382.	8-F	-		H	463.3	***
383.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHEt}$	H	409.3	***
384.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBu}$	H	423.3	***
385.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHIPr}$	H	423.3	***
386.	8-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	H	396.3	***
387.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	409.2	***
388.	9-F	-		H	449.2	***
389.	9-F	-		H	463.3	***
390.	9-F	-		H	477.3	***
391.	9-F	-		H	421.2	***
392.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	437.2	***
393.	9-F	-		H	435.2	***
394.	9-F	-		H	463.2	***
395.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHIPr}$	H	423.2	***
396.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHMe}$	H	395.2	***
397.	9-F	-		H	451.2	***
398.	9-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{nBu})_2$	H	493.3	***
399.	9-F	-		H	483.2	***
400.	9-F	-	tBu	H	380.2	***
401.	9-F	-		H	433.2	***

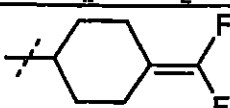
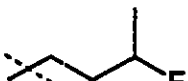
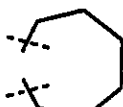
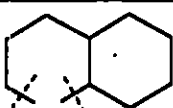
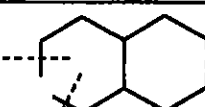
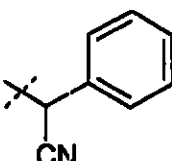
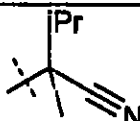
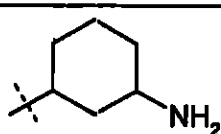
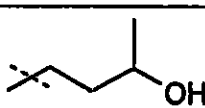
402.	9-F	-			475.2	**
403.	9-F	-		H	463.3	***
404.	9-F	-		H	437.2	***
405.	9-F	-		H	421.2	***
406.	8-Me	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	405.3	***
407.	8-Me	-		H	459.3	***
408.	8-Me	-		H	473.4	***
409.	8-Me	-		H	445.3	***
410.	6-F	-		H	421.3	***
411.	6-Cl	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	425.3	***
412.	6-Cl	-		H	479.2	***
413.	6-Cl	-		H	465.3	***
414.	6,8-diF	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	427.3	***
415.	6,8-diF	-		H	481.3	***

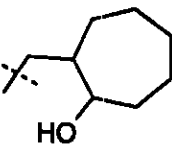
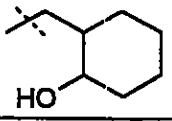
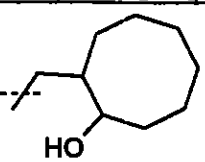
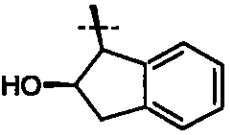
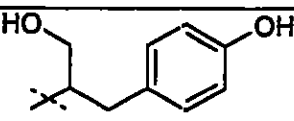
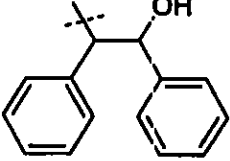
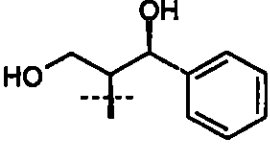
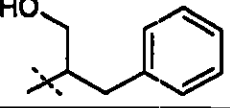
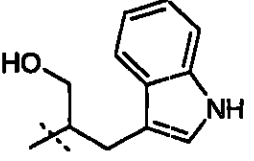
416.	6,8-diF	-		H	467.2	***
417.	6-F	-		H		***
418.	8-MeO	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	407.2	***
419.	6-F	-		H	481.2	***
420.	6-F	-		H	437.2	***
421.	6-F	-			475.2	**
422.	6-F	-	CH ₂ CF ₂ CF ₂ CF ₃	H	456.1	***
423.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CF ₃	H	420.1	***
424.	6-F	-		H	378.1	***
425.	6-F	-		H	392.2	***
426.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ F	H	370.1	***
427.	8-F	-		H	477.3	***
428.	6,9-diF	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHMe	H	413.2	***
429.	6,9-diF	-		H	481.3	***
430.	6,9-diF	-		H	467.2	***

431.	6,9-diF	-		H	495.3	***
432.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})\text{Me}$	H	437.2	***
433.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$	H	451.3	***
434.	6-F	-		H	465.2	***
435.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	H	449.2	***
436.	6-F	-		H	491.4	***
437.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$	H	398.2	***
438.	6-F	-		H	471.2	**
439.	6-F	-		H	463.3	***
440.	6-F	-		H	407.2	***
441.	6-F	-		H	409.3	***
442.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHnPr}$	H	423.2	***
443.	6-F	-		H	409.2	***
444.	6-F	-		H	421.1	***
445.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	H	381.2	***
446.	8-Cl	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Me})_2$	H	425.2	***

447.	8-Cl	-		H	493.2	***
448.	8-Cl	-		H	479.3	***
449.	8-Cl	-		H	465.2	***
450.	6-F	-	Et	H	352.2	***
451.	6-F	-		H	463.3	***
452.	6-F	-	Et	nPr	394.2	**
453.	6-F	-		H	435.2	***
454.	6-F	-		H	477.3	***
455.	6-F	-	CH ₂ tBu	H	394.2	***
456.	6-F	-		H	503.3	***
457.	6-F	-		H	539.3	***
458.	6-F	-		H	471.2	***
459.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₂ CH=CH ₂) ₂	H	475.3	***
460.	6-F	-		H	493.3	***

461.	6-F	-			422.2	***
462.	6-F	-		H	477.3	***
463.	6-F	-			406.2	***
464.	6-F	-		H	477.3	***
465.	6-F	-			406.2	***
466.	6-F	-		H	519.2	***
467.	6-F	-	CH ₂ CF ₂ CF ₂ H	H	438.1	***
468.	6-F	-		H	491.3	***
469.	6-F	-		H	503.3	***
470.	6-F	-		H	531.3	***
471.	6-F	-		H	481.2	***
472.	6-F	-		H	449.3	***
473.	8-F	-	CH ₂ CF ₂ H	H	388.1	***
474.	6-F	-	alilo	allyl	404.2	**
475.	6-F	-	CH ₂ CH ₂ CF=CF ₂	H	432.1	**

490.	6-F	-			407.1	***
491.	6-F	-	CH_2CONH_2	H	381.2	***
492.	6-F	-		H	454.1	***
493.	6-F	-		H	398.1	***
494.	6-F	-			420.2	**
495.	6-F	-			446.2	
496.	6-F	-			446.2	
497.	6-F	-		H	439.1	**
498.	6-F	-		H	419.2	***
499.	6-F	-		H	421.2	***
500.	6,9-diF	-	CH_2CHF_2	- H	406.2	***
501.	6-F	-		H	422.2	***
502.	6-F	-		H	396.2	***

503.	6-F	-		H	450.2	**
504.	6-F	-		H	436.2	**
505.	6-F	-	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	H	411.2	***
506.	6-F	-		H	464.2	**
507.	6-F	-	$\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$	H	398.1	***
508.	6-F	-	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$	H	382.1	***
509.	6-F	-	$\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$	H	396.2	***
510.	6-F	-		H	456.2	**
511.	6-F	-		H	474.1	**
512.	6-F	-		H	520.2	*
513.	6-F	-		H	474.1	**
514.	6-F	-		H	458.2	***
515.	6-F	-		H	497.2	**
516.	6-F	-	$\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{OH}$	H	396.2	*
517.	6-F	-	$\text{CCH}_3(\text{CH}_2\text{OH})_2$	H	412.1	***

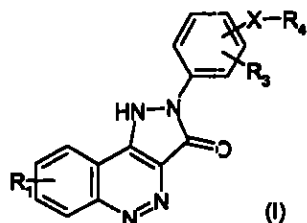
Los ejemplos del resultado de la prueba a los

compuestos anteriores en el ensayo para la inhibición de la producción de interleucina-2 (IL-2) por las células T Jurkat humanas, descritos anteriormente, son como sigue:

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

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I) o una sal, hidrato o solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo:



caracterizado porque

R_1 y R_3 representan independientemente H; F; Cl; Br; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; alquilo de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F o Cl; o alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F;

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

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

m es 0 o 1

Alq es un radical de alquilenos de 1 a 12 átomos de carbono o alquilenos de 2 a 12 átomos de carbono o alquilenos de 2 a 12 átomos de carbono de cadena recta o ramificada, divalente, sustituido opcionalmente o un radical carbocíclico de 3 a 12

átomos de carbono, divalente, cualquiera de estos radicales puede contener una o más uniones de -O-, -S- o -N(R₈)-, en donde R₈ representa H o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono, alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono y

Q representa H; -NR₉R₁₀, en donde R₉ y R₁₀ representan independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono; alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico sustituido opcionalmente; o R₉ y R₁₀ forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, anillo que es sustituido opcionalmente; y

R₇ representa H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; o cuando se toma junto con el átomo o átomos a los cuales están unidos R₆ y R₇ forman un anillo heterocíclico, monocíclico, sustituido opcionalmente que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo; y

X representa un enlace o un radical divalente de la fórmula - (Z)_n-(Alq)- o -(Alq)-(Z)_n- en donde Z representa -O-, -S- o -NH-, Alq es como se define con relación a R₆ y n es 0 o 1.

2. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el radical R₄X- está en

la posición 4 del anillo de fenilo.

3. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado porque X es un enlace.

4. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque R_3 es hidrógeno.

5. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque R_1 es hidrógeno o fluoro.

6. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque R_4 representa $-C(=O)NR_6R_7$, en donde R_6 y R_7 son como se definiera en la reivindicación 1.

7. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque R_4 representa $-NHC(=O)NR_7R_6$, en donde R_6 y R_7 son como se definiera en la reivindicación 1.

8. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque R_6 es un radical de quinuclidinilo.

9. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque R_6 representa un radical de la fórmula $-(Alq)_mQ$, en donde m es 1 y el radical divalente Alq contiene 3 o 4 átomos de carbono y

no es sustituido y Q representa $-NR_9R_{10}$, en donde R_9 y R_{10} representan independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono; alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico sustituido opcionalmente; o forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, anillo que es sustituido opcionalmente.

10. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado porque R_7 es hidrógeno.

11. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque Q representa H; $-CF_3$; $-OH$; $-SH$; $-NR_8R_8$, en donde cada R_8 representa independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alquenilo de 3 a 4 átomos de carbono; alquinilo de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo o heterocíclico sustituido opcionalmente; o forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos; y

R_7 representa H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; o cuando se toma junto con el átomo o átomos a los cuales están unidos R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico, monocíclico que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo.

12. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque R_4 representa un grupo de ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) o un grupo éster de la fórmula $-\text{COOR}$, en donde R es metilo, etilo, n- o iso-propilo, n-, sec- o terc-butilo o bencilo.

13. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 11 o la reivindicación 12, caracterizado porque R_6 representa un radical de la fórmula $-(\text{Alq})_m-\text{Q}$, en donde m es 1, Alq es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ o radical divalente de ciclopropileno, ciclopentileno o ciclohexileno, sustituido opcionalmente por OH, oxo, CF_3 , metoxi o etoxi y Q representa hidrógeno; $-\text{NR}_8\text{R}_8$ en donde cada R_8 puede ser el mismo o diferente y se puede seleccionar de hidrógeno, metilo, etilo, n- o isopropilo o terc-butilo; un éster metílico, etílico o bencílico; o un grupo fenilo, fenoxi, ciclopentilo, ciclohexilo, furilo, tienilo, piperidilo o piperazinilo sustituido opcionalmente.

14. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, caracterizado porque R_7 representa metilo, etilo, n- o iso-propilo, n-, sec- o terc-butilo; o cuando se toman junto con el átomo o átomos a los cuales están unidos R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico, monocíclico que tiene 5, 6 o 7 átomos en el anillo.

15. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, caracterizado porque R_1 es H, F,

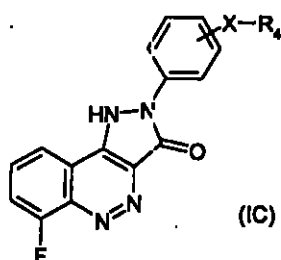
Cl, metilo, metoxi o metilendioxi.

16. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, caracterizado porque R_1 es F, en la posición 6 del sistema de anillos de 3-oxo-1,3-dihidro-2H-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-ilo.

17. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 16, caracterizado porque R_3 es H, F, Cl, metilo, metoxi o metilendioxi.

18. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 17, caracterizado porque X es un enlace o un radical $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

19. Un compuesto de la fórmula (IC) o una sal, hidrato o solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo:



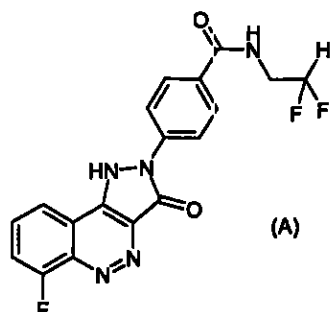
caracterizado porque X y R_4 son como se especifica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 3, 7 a 10 o 11 a 18.

20. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el radical R_4X- está en la posición 4 del anillo de fenilo.

21. Un compuesto de conformidad con la

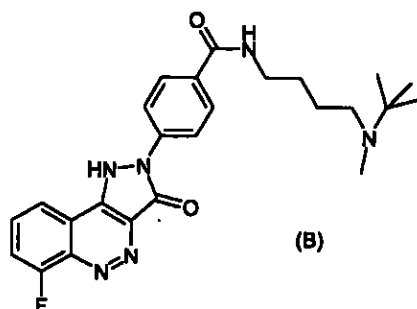
reivindicación 19 o la reivindicación 20, caracterizado porque X es un enlace y R_4 es $-C(=O)NR_6R_7$, en donde R_6 y R_7 son como se especifica en la reivindicación 11 o la reivindicación 13 o 14, respectivamente.

22. El compuesto caracterizado porque es 4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-N-(2,2-difluoro-etilil)-benzamida, de la fórmula (A)



o una sal, hidrato o solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo.

23. El compuesto caracterizado porque es N-[3-(terc-butil-metil-amino)-butil]-4-(6-fluoro-3-oxo-1,3-dihidro-pirazolo[4,3-c]cinnolin-2-il)-benzamida, de la fórmula (B):



o una sal, hidrato o solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario del mismo.

24. Una composición farmacéutica o veterinaria,

caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, junto con un excipiente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario.

25. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque es para el uso en el tratamiento de condiciones las cuales se benefician de la inmunomodulación.

26. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de condiciones las cuales se benefician de la inmunomodulación.

27. Un método de inmunomodulación en mamíferos, inclusive humanos, caracterizado porque comprende la administración a un mamífero en necesidad de este tratamiento de una dosis efectiva desde el punto de vista inmuno-modulador de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23.

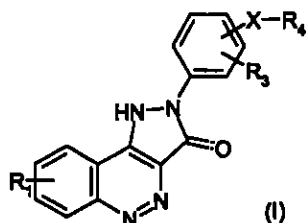
28. Un compuesto para el uso de conformidad con la reivindicación 25, el uso de conformidad con la reivindicación 26 o un método de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado porque la inmunomodulación es la inmuno-inhibición.

29. Un compuesto para el uso de conformidad con la reivindicación 25, el uso de conformidad con la reivindicación

26 o un método de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado porque la condición es una enfermedad autoinmune, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, diabetes, asma, trasplante, lupus eritematoso sistémico y psoriasis.

RESUMEN DE LA INVENCION

Los compuestos de la fórmula (I) son inhibidores de CD80 y son útiles en la terapia de inmunomodulación:



en donde R_1 y R_3 representan independientemente H; F; Cl; Br; $-NO_2$; $-CN$; alquilo de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F o Cl; o alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono sustituido opcionalmente por F; R_4 representa un grupo de ácido carboxílico ($-COOH$) o un éster del mismo, o $-C(=O)NR_6R_7$, $-NR_7C(=O)R_6$, $-NR_7C(=O)OR_6$, $-NHC(=O)NR_7R_6$ o $-NHC(=S)NR_7R_6$, en donde R_6 representa H, o un radical de la fórmula $-(Alq)_m-Q$ en donde m es 0 o 1, Alq es un radical de alquilenos de 1 a 12 átomos de carbono o alquilenos de 2 a 12 átomos de carbono o alquilenos de 2 a 12 átomos de carbono de cadena recta o ramificada, divalente, sustituido opcionalmente o un radical carbocíclico de 3 a 12 átomos de carbono, divalente, cualquiera de estos radicales puede contener una o más uniones de $-O-$, $-S-$ o $-N(R_8)-$, en donde R_8 representa H o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilenos de 3 a 4 átomos de carbono, alquilenos de 3 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono y Q representa H; $-NR_9R_{10}$, en donde R_9 y R_{10}

representan independientemente H; alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; alqueno de 3 a 4 átomos de carbono; alquino de 3 a 4 átomos de carbono; cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono; un grupo éster; un grupo carbocíclico o heterocíclico sustituido opcionalmente; o R_9 y R_{10} forman un anillo cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, anillo que es sustituido opcionalmente; y R_7 representa H o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono; o cuando se toma junto con el átomo o átomos a los cuales están unidos R_6 y R_7 forman un anillo heterocíclico, monocíclico, sustituido opcionalmente que tiene 5, 6 o 7 átomos del anillo; y X representa un enlace o un radical divalente de la fórmula $-(Z)_n-(Alq)-$ o $-(Alq)-(Z)_n-$ en donde Z representa $-O-$, $-S-$ o $-NH-$, Alq es como se define con relación a R_6 y n es 0 o 1.

TRATADO DE COOPERACION EN MATERIA DE PATENTES

PCT

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

(Capítulo II del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes)

(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Referencia de registro del solicitante o del agente: 33/MG	PARA UNA ACCION ADICIONAL		Véase la Notificación de Transmisión del Reporte de Examen Preliminar Internacional (Forma PCT/IPEA/416)
No. de solicitud internacional: PCT/GB2004/001008	Fecha de presentación internacional (día/mes/año): 10.03.2004	Fecha de prioridad (día/mes/año): 14.03.2003	
Clasificación de Patente Internacional (IPC) o clasificación nacional e IPC: C07D487/04, C07D519/00, A61K31/5025, A61P3/10, A61P17/06, A61P19/02, A61P37/00			
Solicitante: AVIDEX LIMITED y colaboradores			
1. Este reporte de examen preliminar internacional ha sido establecido por esta Autoridad de Examen Preliminar Internacional conforme al Artículo 35 y se transmite al solicitante de acuerdo con el Artículo 36. 2. Este REPORTE consiste de un total de 6 hojas, incluyendo esta portada. 3. Este reporte también está acompañado de ANEXOS, que comprenden: a. ☐ (enviar al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de hojas, como sigue: ☐ hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos, que han sido enmendadas y son la base de este reporte y/o hojas que contienen rectificaciones aprobadas por esta Autoridad (véase Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas). ☐ hojas que sustituyen las hojas anteriores, pero que esta Autoridad considera que contienen una enmienda que va más allá de la descripción en la solicitud internacional como se presentó, indicado en el artículo 4 del Cuadro No. I y el Cuadro Suplementario. b. ☐ (enviar únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar el tipo y número de mensajero(s) electrónico(s)) , que contiene un listado de secuencias y/o tablas relacionadas al mismo, en forma leible por computadora únicamente, como se indica en el Cuadro Suplementario con Relación al Listado de Secuencias (véase Sección 802 de las Instrucciones Administrativas).			
4. Este reporte contiene las indicaciones que se relacionan con los siguientes puntos: ☒ Cuadro No. I Base del reporte ☐ Cuadro No. II Prioridad ☒ Cuadro No. III No se establece opinión con respecto a la novedad, paso inventivo o aplicabilidad industrial ☐ Cuadro No. IV Carencia de unidad de la invención ☒ Cuadro No. V Declaración razonada conforme al Artículo 35(2) con respecto a la novedad, paso inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que soportan tal declaración ☐ Cuadro No. VI Ciertos documentos citados ☐ Cuadro No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional ☐ Cuadro No. VIII Ciertas observaciones en la solicitud internacional.			
Fecha de presentación de la solicitud 13.10.2004		Fecha de terminación de este reporte 14.03.2005	
Nombre y dirección de correspondencia de la autoridad de examen preliminar internacional:  Oficina Europea de Patentes - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016		Funcionario autorizado Bosma, P No. de Teléfono +31 70 340-3665	

Forma PCT/IPEA/409 (portada) (Enero de 2004)

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE LA PATENTABILIDAD

No. de Solicitud Internacional
PCT/GB2004/001008

Cuadro No. I Bases del reporte

1. Con respecto al idioma, este répoite se basa en la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó, a menos que se indique de otra manera conforme a este artículo.

- ☐ este reporte se basa en traducciones del idioma original al siguiente idioma, el cual es el idioma de una traducción proporcionada para los propósitos de:
- ☐ búsqueda internacional (conforme a las Reglas 12.3 y 23.1(b))
 - ☐ publicación de la solicitud internacional (conforme a la Regla 12.4)
 - ☐ examen preliminar internacional (conforme a las Reglas 55.2 y/o 55.3)

2. Con respecto a los elementos* de la solicitud internacional, este reporte se basa en (las hojas de reemplazo las cuales han sido proporcionadas a la Oficina receptora en respuesta a una invitación conforme al Artículo 14 son referidas en este reporte como "presentadas originalmente" y no son anexadas a este reporte):

Descripción, Páginas

1-66 **como se presentaron originalmente**

Reivindicaciones, Números

1-29 **como se presentaron originalmente**

- ☐
- un listado de secuencias y/o cualquier tabla relacionada - véase Cuadro Suplemental con Relación al Listado de Secuencias

3. ☐ Las enmiendas han dado por resultado la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/figuras
- ☐ el listado de secuencias (*especificar*)
- ☐ cualquier tabla relacionada con el listado de secuencias (*especificar*):

4. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (alguna de) las enmiendas anexas a este reporte y listadas posteriormente se hubieran elaborado, puesto que se ha considerado que van más allá de la descripción como se presentó, como se indica en el Cuadro Suplemental (Regla 70.2(c)).

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/figuras
- ☐ el listado de secuencias (*especificar*;
- ☐ cualquier tabla relacionada con el listado de secuencias (*especificar*);

* Si aplica el artículo 4, algunas o todas esas hojas pueden ser marcadas como "sustituidas"

167

Cuadro No. III No establecimiento de la opinión con respecto a la novedad, paso inventivo y aplicabilidad industrial

1. Las cuestiones si la invención reclamada parece ser novedosa, involucrar un paso inventivo (que no es obvio), o ser aplicable industrialmente no han sido examinadas con respecto a:

☐ la solicitud internacional completa,

☒ las reivindicaciones Nos. 27-29

debido a:

☒ la solicitud internacional, o las reivindicaciones Nos. 27-29 con respecto a IA se refieren al siguiente contenido que no requiere un examen preliminar internacional (*especificar*):

véase hoja separada

☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indicar elementos particulares posteriormente*) o las reivindicaciones Nos. no son claras de modo que no se podría formar una opinión significativa (*especificar*):

☐ las reivindicaciones, o las reivindicaciones Nos. no están soportadas adecuadamente por la descripción, de modo que no se podría formar una opinión significativa.

☐ el reporte de búsqueda internacional no se ha establecido para las reivindicaciones Nos.

☐ el listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos no cumple con la norma proporcionada en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas en que:

la forma escrita

☐ no ha sido proporcionada

☐ no cumple con la norma

la forma legible por computadora

☐ no ha sido proporcionada

☐ no cumple con la norma

☐ las tablas con relación al listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos, si están únicamente en forma legible por computadora, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.

☐ Véase hoja separada para detalles adicionales

Cuadro No. V Declaración razonada conforme al Artículo 35(2) con respecto a la novedad, paso inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que soportan esta declaración

1. Declaración

Novedad (N)	Si: Reivindicaciones	1-29
	No: Reivindicaciones	
Paso Inventivo (PI)	Si: Reivindicaciones	1-29
	No: Reivindicaciones	
Aplicabilidad Industrial (AI)	Si: Reivindicaciones	1-26
	No: Reivindicaciones	

2. Citaciones y explicaciones (Regla 70.7)

véase hoja separada

169

Con referencia al Artículo III

**No establecimiento de la opinión con respecto a la novedad,
paso inventivo y aplicabilidad industrial**

Las reivindicaciones 27-29 se refieren al objeto considerado por esta Autoridad que es cubierto por las condiciones de la Regla 67.1(iv) del PCT. Consecuentemente, no será formulada una opinión con respecto a la aplicabilidad industrial del objeto de estas reivindicaciones (Artículo 34(4)(a)(I) del PCT).

Para la valoración de las presentes reivindicaciones 27-29 sobre la cuestión si son aplicables industrialmente, no existe un criterio unificado en los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede ser dependiente de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como aplicable industrialmente el objeto de las reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones para un compuesto conocido para el primer uso en el tratamiento médico y el uso de este compuesto para la preparación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

Con Referencia al Artículo V

**Declaración razonada con respecto a la novedad, paso inventivo
o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que
soportan esta declaración**

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: WO 03/004495 A (SOERENSEN POUL; DA GRACA THRIGE DORTHE (DK); ACTIVE BIOTECH AB (SE);) 16 de Enero de 2003 (16-01-2003)

D2: US-A-4591589 (HUMBERT DANIEL Y COLABORADORES); 27 de Mayo de 1986

D1 describe derivados de 3-oxo-dihidropirazolo[4,3-c]quinolin-2-ilo sustituido por N-fenilo como antagonistas de CD80 (compuestos de inmunomodulación), de los cuales los compuestos de la presente solicitud difieren principalmente en que son derivados de 2-fenil-3-oxo-dihidropirazolo[4,3-c]cinolin-2-ilo sustituido por **R₄-X específico** que tienen el mismo uso como antagonistas de CD80 (compuestos de inmunomodulación).

D2 describe 2-aril-pirazolo[4,3-c]cinolin-3-onas que tienen propiedades ansiolíticas, en las cuales el grupo arilo es sustituido opcionalmente por alquilo, alcoxi, halógeno, halometilo o aralcoxi, y que son diferentes de los presentes sustituyentes R⁴-X específicos.

Por lo tanto, la presente solicitud satisface el criterio expuesto en el Artículo 33(2) del PCT y se considera que es nueva con respecto a la técnica anterior como se definiera en las regulaciones (Regla 64(1)-(3) del PCT).

El problema a resolverse por la presente solicitud es proporcionar compuestos adicionales, que sean útiles como antagonistas de CD80 (compuestos de inmunomodulación). Este problema ha sido resuelto por los derivados de 2-fenil-3-oxo-dihidropirazolo[4,3-c]cinolin-2-ilo sustituido por R⁴-X

171

específico de la fórmula (I) de la presente solicitud. A partir de la técnica anterior disponible no hubo incentivos para utilizar los derivados de 2-fenil-3-oxo-dihidropirazolo[4,3-c]**cinolin-2-ilo** mencionados anteriormente para el uso farmacéutico indicado. La presente solicitud satisface consecuentemente el criterio expuesto en el Artículo 33(3) del PCT, debido a que se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-29 no es obvio e involucra un paso inventivo con respecto a la Regla 65(1)(2) del PCT.

Con respecto a la aplicabilidad industrial de las reivindicaciones 27-29 véase la Sección III anterior.

2) Contrario a los requerimientos de la Regla 5.1(a)(ii) del PCT, la técnica anterior, relevante que es descrita en los documentos D1 y D2 no se menciona en la descripción, ni se identifican estos documentos en la misma.

3) "**Sustituido opcionalmente**", como se utiliza en las presentes reivindicaciones 1, 9, 11 y 13, tiene el significado "sustituido por absolutamente nada". Sin embargo, este término amplio es desaprobado conforme al Artículo 33(3) del PCT, debido a que es muy improbable que sustancialmente todos los compuestos cubiertos por estas amplias reivindicaciones sean útiles como antagonista de receptores de andrógeno. Por lo tanto, estas reivindicaciones se refieren a un objeto que no es inventivo.

4) La reivindicación 19 comprende todas las características de la reivindicación 1 y, por lo tanto, no está formulada apropiadamente como una reivindicación dependiente de la

última (Regla 6.4 del PCT).

5) Las reivindicaciones 22 y 23 comprenden todas las características de la reivindicación 1 y, por lo tanto, no están formuladas apropiadamente como reivindicaciones dependientes de la última (Regla 6.4 del PCT).

6) Se pide al solicitante que presente enmiendas a manera de páginas de reemplazo de la manera estipulada por la Regla 66.8(a) del PCT. En particular, las copias corregidas de las enmiendas deben presentarse preferiblemente por triplicado.

Además, la atención del solicitante se atrae al hecho que, como consecuencia de la Regla 66.8(a) del PCT, no está permitido que el examinador lleve a cabo alguna enmienda conforme al procedimiento del PCT, sin embargo, éstas pueden ser menores.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY
(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 33MG	FOR FURTHER ACTION	See Form PCT/PEA416
International application No. PCT/GB2004/001008	International filing date (day/month/year) 10.03.2004	Priority date (day/month/year) 14.03.2003
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D487/04, C07D519/00, A61K31/5025, A61P3/10, A61P17/06, A61P19/02, A61P37/00		
Applicant AVIDEX LIMITED et al.		
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☐ sent to the applicant and to the International Bureau) a total of sheets, as follows: ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).		
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the opinion ☐ Box No. II Priority ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand 13.10.2004	Date of completion of this report 14.03.2005	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Authorized Officer Bosma, P Telephone No. +31 70 340-3665	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

174
International application No.
PCT/GB2004/001008

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
 - ☐ This report is based on translations from the original language into the following language, which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)
2. With regard to the elements* of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*:

Description, Pages

1-66 as originally filed

Claims, Numbers

1-29 as originally filed

- ☐ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing
3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
 - ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing *(specify)*:
 - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify)*:
 4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).
 - ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing *(specify)*:
 - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify)*:

* If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY

175
International application No.
PCT/GB2004/001008

Box No. III - Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:
- ☐ the entire international application,
 - ☒ claims Nos. 27-29
because:
 - ☒ the said international application, or the said claims Nos. 27-29 with respect to IA relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):
see separate sheet
 - ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
 - ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
 - ☐ no international search report has been established for the said claims Nos.
 - ☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:
 - the written form ☐ has not been furnished
 - ☐ does not comply with the standard
 - the computer readable form ☐ has not been furnished
 - ☐ does not comply with the standard
 - ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
 - ☐ See separate sheet for further details

176

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/GB2004/001008

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-29
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-29
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-26
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/GB2004/001008

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claims 27-29 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

For the assessment of the present claims 27-29 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 03/004495 A (SOERENSEN POUL ; DA GRACA THRIGE DORTHE (DK);
ACTIVE BIOTECH AB (SE)); 16 January 2003 (2003-01-16)
D2: US-A-4591589 (HUMBERT DANIEL ET AL); 27 MAY 1986

D1 describes N-phenyl substituted 3-oxo-dihydropyrazolo[4,3-c]quinolin-2-yl derivatives as CD80 antagonists (immunomodulating compounds), from which the compounds of the present application mainly differ in being **specific R₄-X-substituted 2-phenyl-3-oxo-dihydropyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl** derivatives having the same use as CD80 antagonists (immunomodulating compounds).

D2 discloses 2-aryl-pyrazolo[4,3-c]cinnolin-3-ones having anxiolytic properties, in which the aryl group is optionally substituted by alkyl, alkoxy, halogen, halomethyl or aralkoxy, and being different from the present specific R₄-X-substituents.

Therefore the present application satisfies the criterion set forth in Article 33(2) PCT and is considered to be new in respect of the prior art as defined in the regulations

(Rule 64(1)-(3) PCT).

The problem to be solved by the present application is to provide further compounds, which are useful as CD80 antagonists (immunomodulating compounds). This problem has been solved by the specific R_4 -X-substituted 2-phenyl-3-oxo-dihydropyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl derivatives of formula (I) of the present application. From the available prior art there were no incentives to use the above mentioned 2-phenyl-3-oxo-dihydropyrazolo[4,3-c]cinnolin-2-yl derivatives for the indicated pharmaceutical use. The present application consequently satisfies the criterion set forth in Article 33(3) PCT, because the subject-matter of claims 1-29 is considered to be not obvious and to involve an inventive step in respect of Rule 65(1)(2) PCT.

With respect to the industrial applicability of claims 27-29 see Section III above.

- 2) Contrary to the requirements of Rule 5.1(a)(ii) PCT, the relevant background art disclosed in the documents D1 and D2 is not mentioned in the description, nor are these documents identified therein.
- 3) "Optionally substituted", as used in the present claims 1,9,11, and 13, has the meaning "substituted by absolutely anything". However such a broad term is objected to under Article 33(3) PCT, because it is very unlikely that substantially all compounds covered by these broad claims are useful as androgen receptor antagonist. Therefore these claims relate to subject-matter which is not inventive.
- 4) Claim 19 comprises all the features of claim 1 and is therefore not appropriately formulated as a claim dependent on the latter (Rule 6.4 PCT).
- 5) Claims 22 and 23 comprise all the features of claim 1 and are therefore not appropriately formulated as claim dependent on the latter (Rule 6.4 PCT).
- 6) The applicant is requested to file amendments by way of replacement pages in the manner stipulated by Rule 66.8(a) PCT. In particular, fair copies of the amendments should be filed preferably in triplicate.
Moreover, the applicant's attention is drawn to the fact that, as a consequence of Rule 66.8(a) PCT the examiner is not permitted to carry out any amendments under the PCT procedure, however minor these may be.

PCT

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(Artículo 18 y Reglas 43 y 44 del PCT)

Referencia al expediente del solicitante o del agente 33/MG	PARA ACCION ADICIONAL	véase Notificación de la Transmisión del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/220) así como también, donde sea aplicable, el inciso 5 posterior
No. de Solicitud Internacional PCT/GB2004/001008	Fecha de presentación Internacional (día/mes/año): 10/03/2004	Fecha de prioridad (la más reciente) (día/mes/año): 14/03/2003
Solicitante: AVIDEX LIMITED		

Este reporte de Búsqueda Internacional ha sido preparado por esta Autoridad de la Búsqueda Internacional y se transmite al solicitante de acuerdo con el Artículo 18. Una copia está siendo transmitida a la Oficina Internacional

Este Reporte de Búsqueda Internacional consiste de un total de 4 hojas.

☒ También está acompañado por una copia de cada documento de la técnica anterior citado en este reporte.

1. Bases del Reporte

- a. Con respecto al idioma, la búsqueda internacional se llevó a cabo en base a la solicitud Internacional en el idioma en el cual se presentó, a menos que se indique de otra manera conforme a este artículo

☐ la búsqueda internacional se llevó a cabo en base a una traducción de la solicitud internacional proporcionada a esta Autoridad (Regla 23.1(b)).

- b. Con respecto a cualquier secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos descrita en la solicitud internacional, la búsqueda internacional se llevó a cabo en base al listado de secuencias:

☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita.

☐ presentado junto con la solicitud internacional en forma leíble por computadora.

☐ proporcionado subsecuentemente a la Autoridad en forma escrita.

☐ proporcionado subsecuentemente a la Autoridad en forma leíble por computadora.

☐ ha sido proporcionada la declaración que el listado de secuencias escrito subsecuentemente proporcionado no va más allá de la descripción en la solicitud internacional como se presentó.

☐ ha sido proporcionada la declaración que la información registrada en forma leíble por computadora es idéntica al listado de secuencias escrito.

2. ☐ Se encontró que ciertas reivindicaciones no son investigables (Véase el Cuadro I).

3. ☐ La unidad de la invención es deficiente (Véase el Cuadro II).

4. Con respecto al título,

☒ el texto se aprueba como lo presentó el solicitante.

☐ esta Autoridad ha establecido que el texto se lee como sigue:

5. Con respecto al resumen,

☒ el texto se aprueba como lo presentó el solicitante

☐ esta autoridad ha establecido el texto es, de acuerdo con la Regla 38.2(b), tal como aparece en el Cuadro III. El solicitante puede, dentro de un mes a partir de la fecha de envío por correo de este reporte de búsqueda internacional, proporcionar comentarios a esta Autoridad.

6. La figura de los dibujos que se va a publicar con el resumen es la Figura No.

☐ como lo sugirió el solicitante.

☐ porque al solicitante le faltó sugerir una figura.

☐ porque la figura caracteriza mejor la invención.

☐ Ninguna de las figuras.

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. de solicitud internacional
PCT/GB2004/001008

A. CLASIFICACIÓN DEL TEMA

IPC 7 C07D487/04 C07D519/00 A61K31/5025 A61P3/10 A61P17/06
A61P19/02 A61P37/00

De acuerdo a la Clasificación de Patentes Internacional (IPC) o a tanto la clasificación nacional como la IPC.

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido por los símbolos de clasificación):

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentación buscada diferente a la documentación mínima, al grado que tales documentos están incluidos en los campos buscados:

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, en donde sea práctico, términos de búsqueda utilizados):

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS QUE SON RELEVANTES

Categoría*	Cita del documento, con indicación, en donde sea apropiado, de los pasajes relevantes	Pertinente para la reivindicación No.
A	WO 03/004495 A (SOERENSEN POUL; DA GRACA THRIGE DORTHE (DK); ACTIVE BIOTECH AB (SE);) 16 de Enero de 2003 (16-01-2003) el documento completo	1, 24-29
A	US 4 591 589 A (HUMBERT DANIEL Y COLABORADORES) 27 de Mayo de 1986 (27-05-1986) el documento completo	1, 24



Los documentos adicionales se listan en la continuación del cuadro C.



Los miembros de la familia de patentes se listan en el anexo

*categorías especiales de los documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica, el cual no se considera que es de particular relevancia.

"E" primer documento publicado en o después de la fecha de presentación internacional.

"L" documento el cual puede arrojar dudas sobre la(s) reivindicación(es) de prioridad o el cual se cita para establecer la fecha de publicación de otra cita u otra razón especial (como se especifica)

"O" documento que se refiere a una descripción oral, uso, exhibición u otro medio

"P" documento publicado antes de la fecha de representación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o la fecha de prioridad y no en conflicto con la solicitud, pero citado para entender el principio o teoría fundamental de la invención.

"X" documento de relevancia particular; la invención reclamada no puede ser considerada nueva o no se puede considerar que involucra un paso inventivo cuando el documento se toma solo.

"Y" documento de particular relevancia; no se puede considerar que la invención reclamada involucra un paso inventivo cuando el documento es combinado con uno o más de tales documentos, tal combinación que es obvia para una persona experimentada en la técnica.

"&" documento miembro de la misma familia de patentes.

Fecha de la terminación actual de la búsqueda internacional
2 de Junio de 2004

Fecha de envío del reporte de búsqueda internacional
05.07.2004

Nombre y dirección de correo de la ISA

Oficina Europea de Patentes, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

Bosma, P

Forma PCT/ISA/210 (segunda hoja) (Enero de 2004)

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Número de Solicitud Internacional
PCT/GB2004/001008

Recuadro II. Observaciones donde ciertas reivindicaciones no fueron localizadas (Continuación del artículo 2 de la primera hoja).

Este reporte de búsqueda internacional no se ha establecido con respecto a ciertas reivindicaciones conforme al Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

- ☒ Reivindicaciones Nos.:
Debido a que se relacionan con el tema que no requiere que sea buscado por esta Autoridad, específicamente:

Aunque las reivindicaciones 27-29 se dirigen a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda se ha llevado a cabo y se ha basado en los efectos afirmados del compuesto/composición.
- ☐ Reivindicaciones Nos.:
debido a que se relacionan con las partes de la Solicitud Internacional que no cumple con los requerimientos preestablecidos a un grado tal que no se puede llevar a cabo la búsqueda internacional significativa, específicamente.
- ☐ Reivindicaciones Nos.:
Debido a que son reivindicaciones dependientes y no se asignan de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Recuadro III. Observaciones donde la unidad de la invención es deficiente (Continuación del artículo 3 de la primera hoja).

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró múltiples invenciones en esta solicitud internacional, como sigue:

- ☐ Puesto que todas las tasas de búsqueda, adicionales requeridas se pagaron oportunamente por el solicitante, este reporte de búsqueda cubre todas las reivindicaciones buscables.
- ☐ Puesto que todas las reivindicaciones buscables podrían ser buscadas sin esfuerzo que justifique una tasa adicional, esta Autoridad no solicitó el pago de cualquier tasa adicional.
- ☐ Puesto que únicamente algunas tasas de búsqueda, adicionales, requeridas se pagaron oportunamente por el solicitante, este reporte de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron las tasas, específicamente las reivindicaciones Nos.:
- ☐ Ninguna de las tasas de búsqueda, adicionales, requeridas se pagaron oportunamente por el solicitante. En consecuencia, este reporte de búsqueda internacional se restringe a la invención mencionada primero en las reivindicaciones, se cubre por las reivindicaciones Nos.:

Comentario de protesta

- ☐ Las tasas de búsqueda, adicionales se acompañan por la protesta del solicitante.
☐ Ninguna protesta acompaña al pago de las tasas de búsqueda, adicionales

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
Información de miembros de familia de la patente

No. de Solicitud Internacional
PCT/GB2004/001008

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de Familia de patentes	Fecha de publicación
WO 03004495	A	16-01-2003	CA 2451749 A1 16-01-2003
		EP 1409485 A1 21-04-2004	
		WO 03004495 A1 16-01-2003	
		US 2003022913 A1 30-01-2003	

US 4591589	A	27-05-1986	NINGUNO

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 33/MG	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/GB2004/001008	International filing date (day/month/year) 10/03/2004	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 14/03/2003
Applicant: AVIDEX LIMITED		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box II).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box III).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 39.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regards to the drawings.

a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. 1

☐ as suggested by the applicant.

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB2004/001008

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D487/04 C07D519/00 A61K31/5025 A61P3/10 A61P17/06
A61P19/02 A61P37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 03/004495 A (SOERENSEN POUL ; DA GRACA THRIGE DORTHE (DK); ACTIVE BIOTECH AB (SE);) 16 January 2003 (2003-01-16) the whole document	1,24-29
A	US 4 591 589 A (HUMBERT DANIEL ET AL) 27 May 1986 (1986-05-27) the whole document	1,24

☐ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"3" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search	Date of making of the international search report
2 June 2004	05. 07. 2004

Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5918 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 551 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Bosma, P
--	--------------------------------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 27-29 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB2004/001008

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03004495	A	16-01-2003	CA 2451749 A1	16-01-2003
			EP 1409485 A1	21-04-2004
			WO 03004495 A1	16-01-2003
			US - 2003022913 A1	30-01-2003

US 4591589	A	27-05-1986	NONE	

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓	()	() ✓
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	() ✓
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	() ✓
- Descripción de la invención.	()	() ✓
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	() ✓
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	() ✓

COMPLETA ✓	INCOMPLETA ()	()
------------	----------------	-----

DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que Incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()

COMPLETA ()	INCOMPLETA	()
--------------	------------	-----

ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()

COMPLETA ()	INCOMPLETA	()
--------------	------------	-----

Firma Responsable: 

Fecha:

188

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO

REFERENCIA	Radicación No.	5 102549
	Solicitud internacional	GB2004/001008
	Fecha inicio fase nacional	14/10/2005
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	13609

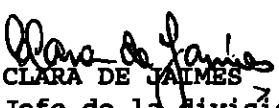
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (FCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


CLARA DE JAIMÉS
Jefe de la División de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 23 DIC. 2005
adpall