

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COM
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00031982 00000001

Folios: 107

Fecha (AMD): 2000-07-27 16:07:53

Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 REPUESTA

Dependencia: 2030 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: P1.-GLAXO GROUP LIMITED.-Solicitud de Patente de Invención para "UN DERIVADO DE 1,5-BENZODIAZEPINA ENRIQUECIDO ENANTIOMERICAMENTE, COMPOSICIÓN FARMACEUTICA QUE LO CONTIENE, PROCESO PARA SU PREPARACIÓN Y PROCESO MEJORADO PARA LA PREPARACIÓN DE LOS INTERMEDIARIOS PARA LA SINTESIS DE DICHO DERIVADO".-
Clase A.61.-Expediente No. 00-031.982.-

1. Me refiero a mi solicitud arriba nombrada de fecha 4 de Mayo de 2000 y al auto dictado por ese Despacho notificado por Estado el 15 de Junio del mismo año.

2. Por medio del presente atentamente manifiesto a usted que, debidamente autorizado por mi poderdante, modifíco el título de la solicitud con el objeto de dar cumplimiento a las exigencias del señor Examinador, para que quede como sigue:

**" UN DERIVADO DE 1,5-BENZODIAZEPINA ENRIQUECIDO
ENANTIOMERICAMENTE, COMPOSICIÓN FARMACEUTICA QUE LO
CONTIENE, PROCESO PARA SU PREPARACIÓN Y PROCESO MEJORADO
PARA LA PREPARACIÓN DE LOS INTERMEDIARIOS PARA LA SINTESIS DE
DICHO DERIVADO"**

3. Anexos me permito presentar a usted:

- (1) Nueva página 1 de la descripción, **que reemplaza la originalmente presentada**, en la cual se ha incluido el nuevo título de la solicitud;
- (2) En original y dos copias, una de ellas de 6 cm x 6 cm, artes finales de los dibujos característicos de la invención, para la publicación en la Gaceta de la Propiedad Industrial;

Sobre este particular, atentamente llamo su atención al hecho de que aún cuando la reivindicación 1 no ilustra la fórmula estructural

del compuesto químico allí nombrado, se anexa el arte final de la fórmula estructural (I) que representa dicho compuesto;

- (3) Extracto de la solicitud, en sus dos formas, **que reemplaza el originalmente presentado**, el cual incluye el nuevo título de la presente invención y la reivindicación 10 que hace referencia al proceso de preparación del compuesto de la reivindicación 1.

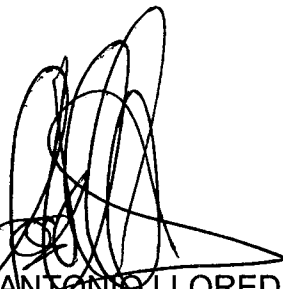
De esta manera, se aclara al señor Examinador que la invención se relaciona con un compuesto enantioméricamente enriquecido derivado de la 1,5 benzodiazepina y su proceso de preparación. Particularmente, la reivindicación 1 protege el compuesto específico correspondiente al ácido 3-{3-[1-(isopropil-fenil-carbamoylmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b][1,4] diazepin-3-il]ureido}benzoico enantioméricamente enriquecido o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, mientras que la reivindicación 10 protege el proceso para proteger este compuesto específico.

De conformidad con lo anterior, atentamente solicito al señor Examinador aceptar el extracto para publicación como ha sido modificado.

- (4) Copias auténticas (2) de las primeras solicitudes de patente presentadas para el invento arriba nombrado **respecto de las cuales reclamo prioridad**, a saber:
- (a) Copia auténtica debidamente certificada de la solicitud británica número 9910366.5 de 6 de Mayo de 1999, junto con la traducción realizada en México por el perito traductor Lic. Manuel Martín Soto Gutiérrez, debidamente legalizada hasta por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el número 182202 de fecha 14 de Junio de 2000 **correspondiente a la totalidad de dicho documento**; y
- (b) Copia auténtica debidamente certificada de la solicitud británica número 0008179.4 de 5 de Abril de 1999, junto con la traducción realizada en México por el perito traductor Lic. Manuel Martín Soto Gutiérrez, debidamente legalizada hasta por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el número 182203 de fecha 14 de Junio de 2000 **correspondiente a la totalidad de dicho documento**.

4. Ruego a usted tomar atenta nota de lo anterior y obrar de conformidad.

Señor Superintendente,



JOSE ANTONIO LLOREDA

T.P. 10.784

Código 231

74
77

UN DERIVADO DE 1,5-BENZODIAZEPINA ENRIQUECIDO
ENANTIOMERICAMENTE, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE LO CONTIENE,
PROCESO PARA SU PREPARACIÓN Y PROCESO MEJORADO PARA LA
PREPARACIÓN DE LOS INTERMEDIARIOS PARA LA SINTESIS DE DICHO
DERIVADO

CAMPO DE LA INVENCION

5 Esta invención se refiere a novedosos
derivados de 1,5-benzodiazepina, a procesos para
su preparación, a composiciones farmacéuticas
que los contienen y a su uso en medicina. Más
particularmente, se refiere a compuestos que
10 exhiben una actividad agonista para los
receptores CCK-A.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La colecistocinina (CCK, por sus siglas
en inglés) es un péptido encontrado en el tracto
gastrointestinal y en el sistema nervioso
central, ver A.J. Prange et al., *Ann. Reports*
Med. Chem. 17, 31, 33 (1982), J.A. Williams,
20 *Biomed Res.* 3, 107 (1982) y V. Mutt,
Gastrointestinal Hormones, G.B.J. Green, Ed.,
Raven Press, N.Y., 169. La CCK ha sido implicada
inter alia como una hormona de saciedad
fisiológica involucrada en la regulación del
25 apetito, ver Della-Ferra et al, *Science*, 206,

78 +
75

**La
Oficina de
Patentes**

**La Oficina de Patentes
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ**

Yo, el abajo firmante, un funcionario en ejercicio debidamente autorizado de acuerdo con la Sección 74(1) y (4) del Acta de Desregulación y Acta de Renuncia por Contrato de 1994 para firmar y otorgar certificados a nombre del Administrador General, por la presente certifico que lo anexo a la misma es una copia verdadera de los documentos que se presentaron originalmente en relación con la solicitud de patente identificada en la misma.

De acuerdo con los Reglamentos de Patente 1982 (Registro de compañías), si una compañía mencionada en este certificado y cualesquiera documentos anexos, tiene re-registro bajo el Acta de Compañías 1980 con el mismo nombre con el cual se registró inmediatamente antes del re-registro inmediatamente antes del re-registro, a excepción de las sustituciones como, o inclusiones como, la última parte del nombre de las palabras "compañía pública limitada" o sus equivalentes en Gales, se refieren al nombre de la compañía de este certificado y cualesquiera documentos adjuntos, deberán ser tratados como referencias al nombre con el cual se re-registró.

De acuerdo con los reglamentos, las palabras "compañía pública limitada" pueden ser reemplazadas por p.l.c., plc. P.L.C., o PLC.

El re-registro bajo el Acta de Compañías no constituye una nueva entidad legal, sino solamente somete a la compañía a ciertas leyes de compañía adicionales.

(SELLO)

**Firma: (Rúbrica)
Fecha: 18 de Abril del 2000**



Una Agencia Ejecutiva del Departamento de Comercio e Industria



**La
Oficina de
Patentes**

1/77

Acta de Patentes de 1977
(Regla 16)

Solicitud para el Otorgamiento de una Patente
(Véanse notas en la parte trasera de esta forma. También se puede obtener un folleto explicativo en la oficina de patentes para ayudarle a presentar esta forma)

LA OFICINA DE PATENTES
6 DE MAYO DE 1999
RECIBIDO POR CORREO
(IMPRESIÓN DE LA MAQUINA REGISTRADORA)

La Oficina de Patentes
Cardiff Road
Newport
Gwent NP9 1RH

1. Su referencia	MA/PU3611	
2. Número de solicitud de patente (Esta parte la leerá la oficina de patentes)	9910366.5	
3. Nombre completo, dirección y código postal del solicitante o de cada uno de los solicitantes (Subraye todos los apellidos)	GLAXO GROUP LIMITED GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY AVENUE GREENFORD MIDDLESEX UB6 ONN GB 473587003 GB	
Número de patentes ADP (en caso que lo conozca) Si el solicitante es una corporación, proporcione el país/estado de su incorporación		
4. Título de la invención	DERIVADOS DE 1,5-BENZODIAZEPINA	
5. Nombre del Agente (en caso de que exista uno)	MICHAEL ATKINSON (VER HOJA DE CONTINUACIÓN)	
"Dirección para servicio" en el Reino Unido a la cual debe enviarse la correspondencia (favor de incluir el código postal)	GLAXO WELLCOME PLC GLAXO WELLCOME HOUSE, BERKELEY AVE. GREENFORD, MIDDLESEX UB6 ONN, GB	
Número ADP de patentes (en caso de conocerse)		
6. Si se declara una prioridad a partir de una o más solicitudes para patente anteriores, proporcione el país y fecha de presentación de la solicitud o de cada una de las solicitudes anteriores y (en caso de que se conozca) el número de solicitud o de cada uno de los números de solicitud.	País	Número de Solicitud de Prioridad (si se conoce)
7. Si esta solicitud está dividida o se deriva de alguna otra manera de una solicitud británica anterior, proporcione el número y la fecha de presentación de la solicitud anterior	Número de Solicitud Anterior	Fecha de presentación (día/mes/año)
8. ¿Existe una declaración de inventor y de derecho a cesión de una patente requerida en apoyo a esta solicitud?	SI	
a) cualquier solicitante nombrado en la parte 3 no sea un inventor, o		





- b) existe un inventor que no haya sido nombrado como un solicitante, o
c) cuando cualquier solicitante mencionado es un cuerpo corporativo;

9. Introduzca el número de hojas para cualquiera de los capítulos siguientes que le presenten con esta forma. No incluya las copias del mismo documento

Hojas que siguen a esta forma	1
Descripción	20
Reivindicación(es)	3
Resumen	1
Dibujo(s)	-

10. Si también se presenta alguno de los siguientes documentos, por favor indíquese la cantidad en el lado derecho de cada artículo.

Documento de prioridad	
Traducción de los documentos de prioridad	
Declaración de inventor y derechos de otorgamiento para una patente (forma de patente 7/77)	
Solicitud para examen preliminar y búsqueda (forma de patentes 9/77)	
Solicitud para examen sustantivo (forma de patentes 10/77)	
Cualquier otro documento (por favor especifique)	

11. Yo/nosotros solicitamos el otorgamiento de una patente en base a esta solicitud (rúbrica)

MICHAEL AKTINSON

MANDATARIO PARA LOS SOLICITANTES

Fecha: 5 de Mayo de 1999

12. Nombre y número telefónico diurno de la persona para establecer contacto en el Reino Unido Kim Allen 0181-966 5721

Advertencia

Después de que se ha depositado una solicitud para una patente, el controlador de la oficina de patentes considerará si se debe prohibir o restringir la publicación o comunicación de la invención, bajo la Sección 22 del Acta de Patentes de 1977. En caso necesario, se le informará de prohibir o restringir su invención de esta manera. Además, si usted vive en el Reino Unido, la Sección 23 del Acta de Patentes de 1977 impide que se apliquen patentes en el extranjero sin solicitar primero un permiso por escrito a la Oficina de Patentes, a menos que se haya depositado una solicitud por lo menos seis semanas anteriores en el Reino Unido para una patente para la misma invención, y si no se ha proporcionado instrucción para prohibición de publicación o comunicación, o se ha recibido una de esas instrucciones.

a) Notas

Si necesita ayuda para llenar esta forma o si tiene





78
81

alguna pregunta, favor de contactar a la Oficina de Patentes al 0645 500505.

b) Escriba sus respuestas en letras mayúsculas usando tinta negra o puede escribirlas a máquina.

c) Si no hay suficiente espacio para todos los detalles relevantes o cualquier parte de esta forma, favor de continuar en una hoja separada y escribir "ver hoja de continuación" en la(s) parte(s) relevante(s). Cualquier hoja de continuación deberá anexarse a esta forma. Si se ha contestado "Si" se necesitará llenar la Forma de Patentes 7/77.

d) Una vez que llenada la forma debe recordar firmarla y poner la fecha.

e) Para conocer detalles de los derechos y formas de pago, favor de ponerse en contacto con la Oficina de Patentes.





Agentes Adicionales
(Ver Página 1 No. 5)

NOMBRE (S)

Alan HESKETH
William Michael DADSON
Michael ATKINSON
Karen CRAWLEY
Peter I. DOLTON
Hugh B. DAWSON
Wendy Anne FILLER
Ruth Elizabeth HACKETT
Catriona McLeod HAMMER
Audrey HAMMETT
Graham M.H. LANE
Stephanie Anne LEAROYD
Helen Kaye QUILLIN
Michael A REED
Marion REES
Michael John STOTT
Andrew J. TEUTEN
Rachel M. THORNLEY
Janis Florence VOLCKMAN

DIRECCIÓN

Glaxo Wellcome plc
Glaxo Wellcome House
Berkeley Avenue
Greenford
Middlesex
UB6 ONN
Gran Bretaña





8083

DERIVADOS DE 1,5-BENZODIAZEPINA

5 Esta invención se refiere a novedosos
derivados de 1,5-benzodiazepina, a procesos para
su preparación, a composiciones farmacéuticas
que los contienen y a su uso en medicina. Más
particularmente, se refiere a compuestos que
10 exhiben una actividad agonista para los
receptores CCK-A.

La colecistocinina (CCK, por sus siglas
en inglés) es un péptido encontrado en el tracto
gastrointestinal y en el sistema nervioso
15 central, ver A.J. Prange et al., *Ann. Reports
Med. Chem.* 17, 31, 33 (1982), J.A. Williams,
Biomed Res. 3, 107 (1982) y V. Mutt,
Gastrointestinal Hormones, G.B.J. Green, Ed.,
Raven Press, N.Y., 169. La CCK ha sido implicada
20 *inter alia* como una hormona de saciedad
fisiológica involucrada en la regulación del
apetito, ver Della-Ferra et al, *Science*, 206,
471 (1979), Saito et al., *Nature*, 289, 599,
(1981), G.P. Smith, *Eating and Its Disorders*,
25 A.J. Stunkard and E. Stellar, Eds. Raven Press,



K



84 81

New York, 67 (1984), como un regulador de la
contracción de la vesícula biliar y de la
secreción de enzimas pancreáticas, un inhibidor
del vaciamiento gástrico, y como un
5 neurotransmisor, ver A.J. Prange, *supra*, J.A.
Williams, *Biomed Res.*, 3, 107 (1982), J.E.
Morley, *Life Sci.* 30, 479, (1982). La gastrina
es un péptido involucrado en la secreción de
ácido gástrico y de pepsina en el estómago, ver
10 L. Sandvick, et al., *American J. Physiology*,
260, G295 (1991), C.W. Lin, et al., *American J.*
Physiology, 262, G1113, (1992). La CCK y la
gastrina comparten homología estructural en su
tetrapéptido C-terminal: Trp-Met-Asp-Phe.

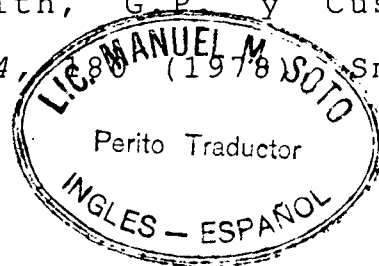
15 Se han identificado dos subtipos de
receptores de la CCK, designados como CCK-A y
CCK-B, y ambos se han encontrado en los sistemas
nerviosos central y periférico. Recientemente se
ha reportado que los receptores CCK-B son
20 similares al receptor de la gastrina, ver
Pisegna, J.R., de Weerth, A, Huppi, K, Wank,
S.A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189, 296-
303 (1992). Los receptores CCK-A están
localizados predominantemente en los tejidos
25 periféricos que incluyen páncreas y la

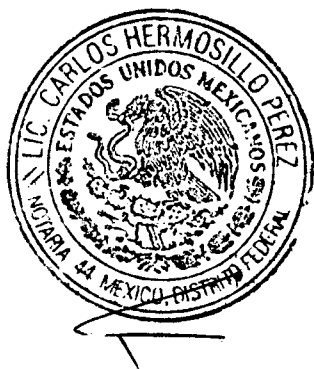




vesícula biliar, el íleon, el esfínter pilórico y las fibras del nervio aferente vagal; los receptores CCK-A se encuentran en un menor grado en el cerebro, ver T.H. Moran, et al., *Brain Res.*, 362, 175-179 (1986), D.R. Hill, et al., *Brain Res*, 4545, 101, (1988), D.R. Hill, et al., *Neurosci Lett.*, 89, 133, (1988), R.W. Barret, et al., *Mol. Pharmacol.*, 36, 285, (1989), D.R. Hill, et al., *J. Neurosci*, 10, 1070 (1990), V. Daugue et al., *Pharmacol Biochem Behav.*, 33, 637, (1989), mientras que los receptores CCK-B se encuentran predominantemente en el cerebro, ver V.J. Lotti y R.S.L Chang, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 83, 4923 (1986), J.N. Crawley, *Trends Pharm. Sci.*, 88, 232, (1991).

La actividad agonista de la CCK ha sido asociada a la inhibición de la ingestión de alimentos en animales, y de esta manera, a su pérdida de peso, ver Della-Fera, et al. *supra*, K.E. Asin, et al, *Intl. Conference on Obesity*, resumen pp.40 (1990). Se ha sugerido que la CCK actúa en la periferia a través de las fibras vagales y no directamente en el cerebro, para producir saciedad, ver Smith, G.P. y Cushin, B.J., *Neuroscience Abstr.*, 4, (1978) Smith,

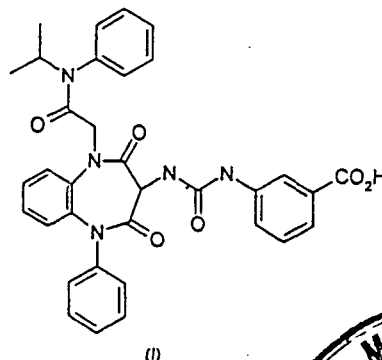




G.P., Jerome, C., Cushin, B.J., Eterno, R., y Simansky, K.J., *Science*, 212, 687-689 (1981).

La patente norteamericana No. 5,646,140 (Sugg, et al.) describe ciertos compuestos de 3-amino 1,5-benzodiazepina que exhiben una actividad agonista por el receptor CCK-A, permitiéndoles por ello modular las hormonas gastrina y colecistocinina (CCK) en mamíferos. Ver en particular, el compuesto del Ejemplo 7. Ciertos de estos compuestos exhiben también actividad antagonista en los receptores CCK-B.

De manera breve, en un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto enantioméricamente enriquecido, de Fórmula (I), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.





El compuesto de Fórmula (I) es el ácido
3-{3-[1-(Isopropil-fenil-carbamoilmetil)-2,4-
dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-
benzo[b][1,4]diazepin-3-il]ureido}benzoico. Este
5 compuesto tiene un carbono quiral en el anillo
de benzodiazepina. Los solicitantes han
encontrado que se prefiere el enantiómero que
hace girar la luz en la dirección positiva, bajo
las condiciones descritas posteriormente. A este
10 enantiómero se hace referencia posteriormente en
la presente, como el enantiómero (+). Los
solicitantes han encontrado que este isómero
tiene propiedades mejoradas respecto a la mezcla
racémica y por lo tanto es más conveniente que
15 la mezcla racémica para el tratamiento de la
obesidad y de otras enfermedades o condiciones
mediadas por el CCK-A. Como se usa en la
presente, "enantioméricamente enriquecido"
significa que hay más del enantiómero (+) que
20 del enantiómero (-), lo cual es opuesto al caso
de la mezcla racémica, que tiene iguales
cantidades de cada isómero. Como se usa en la
presente "el compuesto de esta invención" o "el
compuesto enantioméricamente enriquecido de esta
25 invención", y expresiones que contengan estas





588

frases o frases similares, incluyen las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

El "enantiómero (+)" se refiere a la rotación óptica del enantiómero y no de las sales y solvatos del mismo. Las sales y solvatos preferidos serán sales y solvatos del enantiómero (+) del compuesto de Fórmula (I) sin importar la rotación óptica de la sal o solvato.

Preferentemente, el enantiómero (+) es al menos el 90% de la cantidad total del compuesto enantioméricamente enriquecido. Más preferentemente, el enantiómero (+) es al menos el 96% de la cantidad total del compuesto. De la manera más preferente, el enantiómero (+) es al menos el 99% de la cantidad total del compuesto.

En otro aspecto, la presente invención describe una composición farmacéutica que comprende el compuesto enantioméricamente enriquecido, de esta invención.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto enantioméricamente enriquecido, de esta invención, o de una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el



79



tratamiento de condiciones en donde la
modificación de los efectos de la CCK y/o
gastrina es de beneficio terapéutico.

El enantiómero (+) de la presente
5 invención exhibe una actividad agonista del CCK-
A y puede considerarse como un agonista total de
la colecistocinina, porque se enlaza a los
receptores CCK-A y estimula totalmente la
contracción de la vesícula biliar y reduce la
10 alimentación en modelos animales. Por lo tanto,
en un aspecto adicional de la presente
invención, se proporciona un método para el
tratamiento, en un mamífero, incluyendo el
hombre, de una enfermedad o condición mediada
15 por el CCK-A, el cual comprende administrar a un
paciente, una cantidad terapéuticamente efectiva
de una composición de esta invención. Por
ejemplo, la composición de esta invención deberá
ser útil para el tratamiento de la obesidad, así
20 como de patologías relacionadas, tales como la
hipertensión, estasis de la vesícula biliar, y
diabetes, indirectamente a través de la pérdida
de peso, y directamente a través del vaciamiento
gástrico retardado, mediado por el CCK-A. Además
25 el enantiómero (+) descrito en la presente

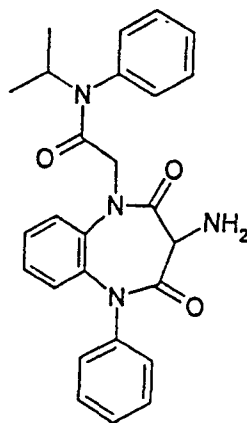




proporciona nuevos enfoques para inducir la
saciedad, para proporcionar regulación del
apetito y para modificar el consumo de alimentos
en mamíferos, especialmente humanos, para
5 regular el apetito, tratar la obesidad y
mantener la pérdida de peso.

El enantiómero (+) de esta invención
puede producirse fabricando primero la mezcla
racémica, tal como se describe en el Ejemplo 7
10 de la patente norteamericana No. 5,646,140 y
luego separando los enantiómeros por
cromatografía quiral.

Alternativamente el enantiómero (+) se
puede preparar mediante la reacción del
15 enantiómero apropiado, especialmente el
enantiómero (S) de la amina de la fórmula (II);



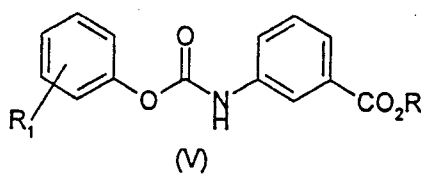
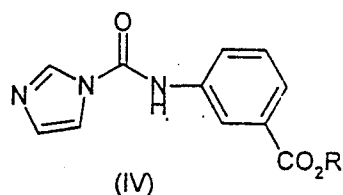
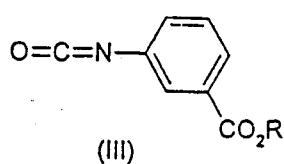
(II)





con un isocianato de fórmula (III; en donde R es un grupo protector carboxilo, por ejemplo, t-butilo), una imidazolidina de fórmula (IV; en donde R es un grupo protector carboxilo, por ejemplo, t-butilo) o un carbonato de fenilo opcionalmente substituido, de fórmula (V; en donde R es un grupo protector carboxilo, por ejemplo, t-butilo y R₁ es hidrógeno o un substituyente fenilo convencional, por ejemplo, NO₂) seguida de la eliminación del grupo protector carboxilo, R.

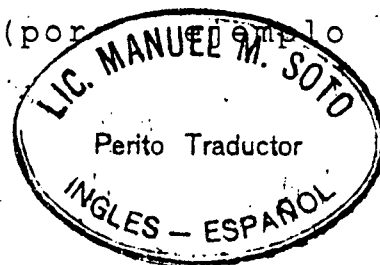
15



20

La reacción convenientemente toma lugar en la presencia de un solvente adecuado tal como un éter (por ejemplo tetrahidrofurano) o un hidrocarburo halogenado (por ejemplo diclorometano) o nitrilo (por ejemplo

25





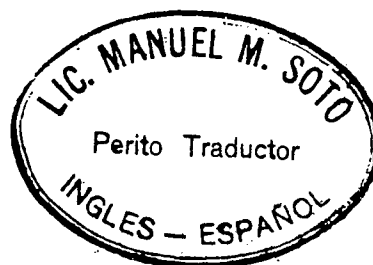
8992

acetonitrilo) a una temperatura que se encuentre en el intervalo de 0 a 80 °C.

Convenientemente el enantiómero requerido de la amina (II) se puede usar en la forma de una sal del mismo, por ejemplo, una sal del ácido R-camforsulfónico y en esta modalidad la reacción se puede llevar a cabo en la presencia de una base, por ejemplo, de una amina terciaria tal como la trietilamina.

La hidrólisis del grupo protector carboxilo se puede llevar a cabo usando procedimientos convencionales. Así, por ejemplo, cuando R es un grupo t-butilo, este se puede remover mediante hidrólisis con ácido clorhídrico o ácido trifluoroacético, usando procedimientos establecidos. (Protecting groups in Organic Synthesis T. Greene, Ed., Wiley Interscience, New York, p168, 1981).

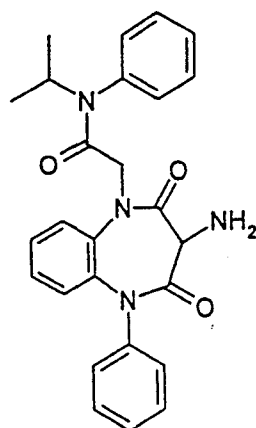
El enantiómero requerido, de la amina de Fórmula (II);







5



(II)

10

puede prepararse mediante la separación de la amina racémica correspondiente, a través de cromatografía por HPLC quiral, o a través de la separación asimétrica inducida por cristalización, a través de la sal del ácido R-camforsulfónico.

La amina racémica II se puede preparar mediante el método descrito en el Compuesto Intermedio 11 de la patente norteamericana No. 5,646,140.

Los isocianatos de Fórmula (III) se pueden comprar o preparar mediante la reacción de la amina correspondiente (VI) con fosgeno o trifosgeno en un solvente adecuado, tal como cloruro de metileno. Las imidas de fórmula



24



9194

(IV) se pueden preparar mediante el tratamiento de la amina correspondiente (VI) con carbonildiimidazol en un solvente adecuado (diclorometano, éter, tetrahidrofurano) a una temperatura que varíe de 0 a 80 °C (convenientemente a temperatura ambiente). Los carbamatos de fenilo opcionalmente substituidos de Fórmula (V) se pueden preparar mediante la reacción de la amina correspondiente (VI) con el cloroformiato de fenilo opcionalmente substituido, en la presencia de una base (piridina, trietilamina) en un solvente adecuado (diclorometano) y a una temperatura de 0 a 50 °C. Las aminas de la fórmula (VI) son compuestos ya conocidos o se pueden preparar mediante procedimientos análogos a aquéllos usados para preparar los compuestos conocidos.

Los experimentados en la técnica apreciarán que cuando en la presente se hace referencia a tratamiento, este se extiende a la profilaxis así como al tratamiento de enfermedades o síntomas establecidos. Además, se apreciará que la cantidad del enantiómero preferido de la invención, requerida para el uso en el tratamiento, variará con la naturaleza de



9295

la condición que se trate y con la edad y la
condición del paciente, y finalmente estará a
discreción del médico o veterinario que atienda
el caso. Sin embargo, en general, las dosis
5 empleadas para el tratamiento de humanos adultos
estarán típicamente en el intervalo de 0.02 a
5000 mg por día, por ejemplo, de 1 a 1500 mg por
día. La dosis deseada se puede presentar
convenientemente en una sola dosis o como dosis
10 divididas administradas a intervalos apropiados,
por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más dosis
secundarias por día.

Aunque es posible que el compuesto
enantioméricamente enriquecido de la presente
15 invención sea administrado terapéuticamente como
el producto químico en bruto, es preferible
presentar el ingrediente activo como una
composición farmacéutica. Por consiguiente, la
presente invención proporciona además una
20 composición farmacéutica que comprende el
compuesto enantioméricamente enriquecido, de
esta invención, junto con uno o más portadores
y/o excipientes farmacéuticamente aceptables
para el mismo y, opcionalmente, otros
25 ingredientes terapéuticos.





93 96

El(los) portador(es) y/o excipiente(s) para el mismo debe(n) de ser "aceptable(s)" en el sentido de que sea(n) compatible(s) con los otros ingredientes de la formulación y de que no
5 sea(n) dañino(s) al que reciba la misma.

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas formuladas especialmente para la administración oral, bucal, parenteral, implante, o rectal, sin
10 embargo se prefiere la administración oral. Para la administración bucal, la composición puede tomar la forma de tabletas o pastillas formuladas en una manera convencional. Las tabletas y las cápsulas para la administración
15 oral pueden contener excipientes convencionales tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, mucílago de almidón o polivinilpirrolidona), materiales de relleno (por ejemplo, lactosa,
20 azúcar, celulosa microcristalina, almidón de maíz, fosfato de calcio o sorbitol), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, polietilenglicol o sílice), desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa o
25 almidón glicolato de (sodio) agentes



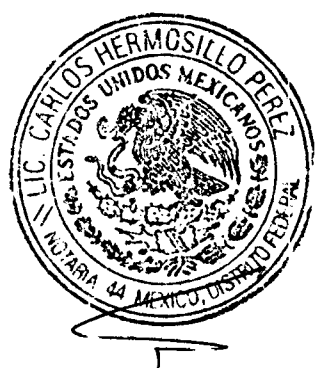


9497

humectantes, tales como el lauril sulfato de sodio. Las tabletas pueden ser recubiertas de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica.

5 Alternativamente, el enantiómero preferido, de la presente invención, puede incorporarse en preparaciones líquidas orales tales como por ejemplo, suspensiones acuosas o aceitosas, soluciones, emulsiones, jarabes o
10 elixires. Además, las formulaciones que contienen este enantiómero preferido se pueden presentar como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Esas preparaciones líquidas
15 pueden contener aditivos convencionales tales como agentes suspendentes, tales como jarabe de sorbitol, metilcelulosa, jarabe de glucosa/azúcar, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de
20 aluminio o grasas comestibles hidrogenadas; agentes emulsificantes tales como la lecitina, el monooleato de sorbitano o acacia; vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles) tales como el aceite de almendras,
25 aceite de coco fraccionado, ésteres de aceites,





598

propilenglicol o alcohol etílico; y conservadores tales como los p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo, o el ácido sórbico. Esas preparaciones se pueden formular también como

5 supositorios, por ejemplo, que contengan bases convencionales para supositorios, tales como la manteca de cacao u otros glicéridos.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención se pueden formular para la

10 administración parenteral por inyección o por infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones, o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener

15 agentes para formulaciones, tales como agentes suspendentes, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado (por ejemplo, agua estéril

20 libre de pirógenos) antes de su uso.

La composición de conformidad con la invención se puede formular también como una preparación para depósito. Esas formulaciones de acción prolongada se pueden administrar mediante

25 implante (por ejemplo, subcutáneamente) o





[Handwritten signature]

9699

intramuscularmente) o mediante inyección intramuscular. Por consiguiente, el enantiómero preferido de la invención se puede formular con materiales poliméricos o hidrofóbicos, adecuados
5 (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable), resinas de intercambio iónico o como derivados escasamente solubles, como por ejemplo una sal escasamente soluble.

Las composiciones de conformidad con la
10 invención pueden contener entre 0.1 y 99% del ingrediente activo, convenientemente de 30 a 95% para tabletas y cápsulas, y de 3 a 50% para preparaciones líquidas.

Los siguientes ejemplos, que no son
15 limitantes, ilustran la invención.

Compuesto Intermedio 1

Sal del ácido (+)-2-(3-Amino-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-[b][1,4]diazepin-1-il)-N-isopropil-N-fenilacetamida camforsulfónico
20

Se agitaron (+/-)-2-(3-Amino-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-[b][1,4]diazepin-1-il)-N-isopropil-N-fenilacetamida (10 g, 1
25 equivalente) y ácido R-camforsulfónico (0.8 g,





0.95 equivalentes), en tetrahydrofurano (35 ml) y tolueno (65 ml) para dar una solución. La solución se calentó a 70 °C con la formación de una suspensión. Se adicionó agua (0.4 ml) 5 seguida de una solución de 2-piridincarboxaldehído (0.24 g, 0.1 equivalentes) en tolueno (5 ml). La mezcla se calentó a 70 °C durante 3 horas y luego se enfrió hasta 25 °C por 5 horas y se agitó a 25 °C durante 16 horas. 10 la suspensión se enfrió súbitamente hasta una temperatura de 0 a 5 °C por un tiempo de 1.5 horas. El sólido se recolectó por filtración lavando con tolueno/tetrahydrofurano (2:1) (10 ml). El secado in vacuo a 50 °C produjo el 15 compuesto del título como un sólido blanco (12.6 g). Análisis cromatográfico: Eluyente: 30 % de alcohol isopropílico, 70 % de heptano + 0.05 % de dietilamina; Columna: 25 cm x 4.6 mm de diámetro interno., Chiralpak AD; Flujo: 20 1 ml/minuto; Temperatura: 40 grados centígrados; Detección: UV 230 nm; Volumen de Inyección: 10 µL; Solución muestra: 0.1 mg/ml; muestra en 30 % de alcohol isopropílico, 70% de heptano. Las soluciones muestra fueron inyectadas 25 inmediatamente después de la preparación.



CP8 101

Tiempos de retención: enantiómero (+), 8.2 minutos. El enantiómero (-) no deseado (12.7 minutos) estuvo por debajo de los límites de detección.

5

Compuesto Intermedio 2

Ester t-butílico del ácido 3-Nitrobenzoico

Se adicionó t-butoxido de potasio (3.82 g, 32.30 mmol) a una solución de cloruro de 3-nitrobenzoilo (5.00 g, 26.94 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (70 ml) y se agitó bajo nitrógeno por 2 horas. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y se dividió entre diclorometano y agua. Después de separar las fases, la capa acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron *in vacuo*. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice grado de evaporación instantánea, usando un gradiente de 0 a 5% de acetato de etilo en n-hexano. Las fracciones que contenían el producto se combinaron, se concentraron *in vacuo*, y luego se secaron bajo alto vacío para



99
402

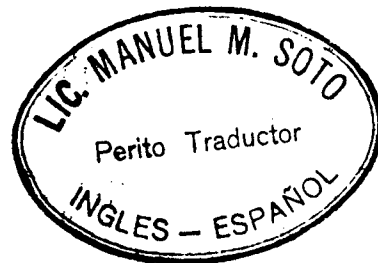
proporcionar el compuesto del título como un
aceite (3.82 g, 17.1 mmol). RMN ^1H (300 MHz,
 CDCl_3) δ = 1.63 (s, 9H); 7.62 (t, J = 7.9 Hz,
1H); 8.29-8.41 (m, 2H); 8.78-8.80 (m, 1H). MS
5 (Cl): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 224$.

Compuesto Intermedio 3

Ester t-butílico del ácido 3-Amino-benzoico

10 Una solución de éster t-butílico del
ácido 3-nitro-benzoico (3.77 g, 16.9 mmol), en
etanol absoluto (50 ml) se combinó con paladio
sobre carbón (10 % en peso, 0.30 g) y se agitó
bajo hidrógeno atmosférico durante
15 aproximadamente 3 horas. La mezcla de reacción se
filtró a través de una almohadilla de tierras
diatomáceas y luego se concentró *in vacuo* hasta
un aceite que cristalizó cuando se secó bajo
alto vacío proporcionando el compuesto del
20 título como un sólido color canela (3.28 g, 16.9
mmol). RMN ^1H (30 MHz, CDCl_3) δ = 1.58 (s, 9H);
6.79-6.87 (m, 1H), 7.19 (t, J =8.5 Hz, 1H); 7.24-
7.34 (m, 1H); 7.38 (d, J =8.0 Hz, 1H). MS (Cl):
[$\text{M}+\text{H}$] $^+ = 194$.

25

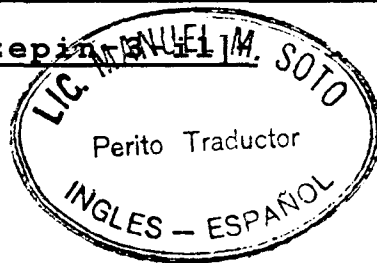


100
103**Compuesto Intermedio 4****Ester t-butílico del ácido 3-Isocianobenzoico**

Se adicionó trifosgeno (13.428 g, 45.25
5 mmol) a una solución del éster t-butílico del
ácido 3-aminobenzoico (26.50 g, 137.13 mmol) y
triethylamina (38.23 ml, 274.28 mmol) en
tetrahydrofurano anhidro (600 ml) a una
temperatura de 0 a 5 °C. La mezcla de reacción
10 se agitó a una temperatura de 0 a 5 °C durante 2
horas, luego se concentró *in vacuo* hasta un
sólido blanco. El producto crudo se incorporó
como una pasta líquida en hexano (500 ml), se
filtró, y el filtrado se concentró *in vacuo* para
15 producir el compuesto del título como un aceite
(21.54 g, 71.6 %). El isocianato crudo se usó
sin purificación adicional. RMN ¹H (300 MHz,
CDCl₃) δ = 1.59 (s, 9H); 7.23 (señal amplia,
J=7.8 Hz, 1H); 7.36 (t, J=7.8 Hz, 1H); 7.69
20 (señal amplia, 1H); 7.81 (d, J=7.8 Hz, 1H).

Compuesto Intermedio 5

**Ester t-butílico del ácido (+)3-{3-[1-(Isopropil-
fenil-carbamoylmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-
25 tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepin-1-yl]}**



101
104ureido}benzoico

El compuesto intermedio (I; 66.30 g, 98.25 mmol) se adicionó lentamente a una solución de éster t-butílico del ácido 3-Isociano-benzoico (21.54 g, 98.25 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (750 ml). A la mezcla de reacción se adicionó trietilamina (13.70 ml, 98.29 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua (3000 ml) para producir un sólido blanco. El sólido se recolectó por filtración lavando con agua (3 X 500 ml). El secado por filtración con vacío produjo el compuesto del título como un sólido blanco (65.01 g, 100%). El compuesto del título crudo se usó sin purificación adicional. Caracterización cromatográfica: Eluyente: Alcohol isopropílico 30%, Heptano 70% + Dietilamina 0.05%. Columna: 25 cm x 4.6 mm de diámetro interno, Chiralpak AD; Flujo: 1 ml/minuto; Temperatura: 40 grados C; Detección: UV 230 nm; volumen de inyección: 10 µL; Solución de muestra: muestra 0.1 mg/ml en 30% de alcohol isopropílico 70% de heptano.



Las soluciones de muestra fueron inyectadas inmediatamente después de la preparación. Tiempos de retención: enantiómero (+): 15.6 minutos. El enantiómero (-) no deseado: (13.3 5 minutos) estuvo por debajo de los límites de detección.

Ejemplo 1

Separación Cromatográfica de Enantiómeros

10 Acido (+) y (-)-3-{3-[1-(Isopropil-fenil-carbamoilmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b][1,4]diazepin-3-il]-ureido} benzoico

15 Se preparó ácido 3-{3-[1-(Isopropil-fenil-carbamoilmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b][1,4]diazepin-3-il]-ureido} benzoico racémico como se describió para el ejemplo 7 en la patente norteamericana No. 20 5,646,140 y se separó por HPLC quiral bajo las siguientes condiciones: columna de 250 X 4.0 µm (diámetro interno), Diacel Chiracel OD-R 5 um; el eluyente fue de 80:20:0.1:1, 80 partes, de acetonitrilo, 20 partes de agua, 0.1 parte de 25 trietilamina, y 1 parte de ácido acético; la



longitud de onda de detección UV es de 230 nm; la temperatura fue la ambiente; el flujo fue de 1 ml/minuto; y el volumen de inyección fue de 20 ul. Bajo estas condiciones el enantiómero (+) tuvo un tiempo de retención de 6.50 minutos y el isómero (-) tuvo un tiempo de retención de 3.89 minutos.

Ejemplo 2

10 Acido (+)-3{3-[1-(Isopropil-fenil-carbamoil-metil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b][1,4]diazepin-3-il]-ureido}benzoico

Se agitó éster t-butílico del ácido (+)-3{3-[1-(Isopropil-fenil-carbamoilmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b][1,4]diazepin-3-il]-ureido}benzoico (65.01 g, 98.24 mmol) en ácido clorhídrico 4N en dioxano (280 ml) a temperatura ambiente durante 6 horas. La mezcla de reacción se concentró in vacuo y el sólido/aceite resultante se trituro en agua para producir un sólido blanco. El sólido blanco se recolectó por filtración y se lavó con agua (2 X 500 ml). El producto crudo se disolvió en acetona caliente (250 ml) y se





adicionó agua (275 ml) hasta que la solución se volvió turbia. Se adicionó acetona adicional (40 ml) y la solución se calentó hasta que se obtuvo una solución clara. La solución se dejó a un
5 lado y se le dejó enfriar. El sólido blanco resultante se recolectó por filtración, se lavó con agua (3 X 100 ml) y se secó bajo una campana de vacío (50.8-63.5 cm de Hg (20-25 plg de Hg)) a una temperatura de 40 a 50 °C, para
10 proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (40.496 g, 68%). Se analizó su pureza mediante cromatografía quiral (ver el protocolo de separación cromatográfica). Rotación óptica (0.721 g en 100 mL de acetona)
15 $[\alpha]_D = +84.3$. RMN ^1H (300 MHz, DMSO) $\delta = 0.95$ (d, $J=7.5$ Hz, 3H); 0.97 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); 4.18 (d, $J=16.7$ Hz, 1H); 4.48 (d, $J=16.7$ Hz, 1H); 4.78 (m, 1H); 5.02 (d, $J=7.8$ Hz, 1H); 6.91 (d, $J=7.8$ Hz, 1H); 6.95 (señal amplia, $J=8.1$ Hz, 1H);
20 7.22-7.57 (m, 19H); 8.00 (s, 1H); 9.34 (s, 1H); 12.78 (s, 1H). MS (ES): $[M+1] = 606.1$; $[M+Na] = 628.1$; $[M-1] = 604.1$.





105
108

ENSAYOS BIOLÓGICOS

Los enantiómeros (+) y (-) y la mezcla racémica se caracterizaron en los siguientes 5 ensayos. Los resultados de estos ensayos se resumen en la tabla posterior.

Preparación del Tejido de Vesícula Biliar de Cobayo

10

Se retiraron vesículas biliares de cobayos Hartley machos, sacrificados con atmósfera de CO_2 . A las vesículas biliares se les eliminó el tejido conectivo adherente y se 15 cortaron en dos anillos de cada animal (de 2 a 4 mm de longitud). Los anillos se suspendieron en cámaras para órganos que contenían una solución salina fisiológica (NaCl 118.4 mM, KCl 4.7 mM, MgSO_4 1.2 mM, CaCl_2 2.5 mM, KH_2PO_3 1.2 mM, NaHCO_3 20 25 mM, dextrosa 11.1 mM). La solución del baño se mantuvo a 37°C y se aireó con 95% de O_2 /5% de CO_2 para mantener un $\text{pH} = 7.4$. Los tejidos se conectaron mediante cadenas de oro y alambres de montaje, de acero inoxidable, a transductores 25 isométricos de desplazamiento de fuerza Grass,





105
109

Modelo FT03 D). Las respuestas se registraron en un polígrafo (Grass, Modelo 7E). Un tejido de cada animal sirvió como un control de tiempo/solvente y no recibió el compuesto de prueba. Los anillos se estiraron gradualmente (por un periodo de 120 minutos) hasta una tensión basal de reposo de 1 g la cual se mantuvo a través del experimento. Durante el periodo de ajuste de la tensión basal, los anillos se expusieron a acetilcolina (10^{-6} M) cuatro veces, para verificar la contractibilidad del tejido. Los tejidos se expusieron luego a una dosis por debajo de la dosis máxima, de CCK-8 sulfatada (Sigma, 3×10^{-9} M).

Después de obtener una respuesta estable, los tejidos se lavaron 3 veces rápidamente y después de 5 a 10 minutos, por 1 hora, para reestablecer una línea base estable.

Valores de EC50 del Agonista.

Los compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) luego se diluyeron con agua y se ensayaron a través de una curva de concentración-respuesta, acumulativa para el





107
410

compuesto de prueba (de 10^{-11} a 3×10^{-5} M) seguida de una curva de concentración-respuesta para CCK-8 sulfatado (de 10^{-10} a 10^{-6} M) en la presencia de la concentración más alta del compuesto de prueba. Como una prueba final, se adicionó acetilcolina (1 mM) para inducir la contracción máxima. Para cada compuesto de prueba se realizaron un mínimo de tres determinaciones de actividad.

10

PA2 del Antagonista

Se incubaron tejidos de vesícula biliar, de al menos tres animales diferentes, durante 60 minutos, con una concentración dada (de 3 a 5 concentraciones por análogo) del antagonista, seguido de una curva de respuesta de la concentración, acumulativa, con CCK-8 o el compuesto 1. Un tejido apareado de cada animal no recibió el antagonista y sirvió como el control de tiempo/solvente usado para calcular la relación de concentraciones para el desplazamiento hacia la derecha en la respuesta a la concentración del CCK-8. Los valores de pA2 fueron determinados por análisis de Schild para

25



41



#108

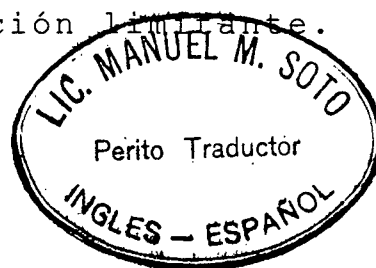
un número dado de observaciones²³. Los límites de confianza al 95%, superior e inferior, y las pendientes de la curva de Schild, se proporcionan para cada pA2.

5

Evaluación de líneas celulares que contenían el receptor CCK estable.

Los clones de cDNA para los receptores CCK-A¹⁸ o CCK-B¹⁹ humanos, se ligaron en el vector pcDNA1-Neo de Invitrogen Corp (San Diego, CA) para la transfección directa. El DNA se preparó a través del método de lisis alcalina y se transfectó a células CHO-K1 (ATCC, Rockville, MD) usando el reactivo Lipofectin²⁴ (Gibco BRL, Gaithersburg, MD). Los transfectantes estables se seleccionaron inicialmente mediante el uso de Geneticin (Gibco BRL) y las células resistentes que contenían el receptor se enriquecieron mediante clasificación de células activada por fluorescencia, en base al enlazamiento de Fluoresceína-Gly-[(Nle28,31)-CCK-8. Las líneas clonales se establecieron subsecuentemente mediante el método de dilución limitante.

25



42



H2
109**Preparación de membranas celulares.**

Se cultivaron células CHO-K1 transfectadas establemente con cDNA del receptor CCK-A o CCK-B, a 37 °C bajo una atmósfera humidificada (95 % de O₂/5% de CO₂) en medio F12 de Ham complementado con 5% de suero de bovino fetal inactivado térmicamente. Las células se subcultivaron dos veces semanalmente y se cultivaron hasta una densidad de 2 a 4 millones de células/mL. Las células se recolectaron por centrifugación (600 X g, 15 minutos, 4 °C) y se volvieron a suspender en amortiguador (20 mL, pH 7.4) que contenía TrisHCl (25 mM), EDTA (5 mM), EGTA (5 mM), fluoruro de fenilsulfonilo (0.1 mM) e inhibidor de tripsina de soya (100 µg/mL). Las células se rompieron con un homogeneizador de teflón y vidrio motorizado (25 veces) y el homogenato se centrifugó a baja velocidad (600 X g, 10 minutos, 4 °C). El sobrenadante se recolectó y centrifugó a elevada velocidad (500,000 X g, 15 minutos, 4 °C) para formar pelletillas de la fracción en partículas. Las pelletillas a baja velocidad se procesaron tres veces adicionales. Las fracciones de partículas





113/110

a alta velocidad se combinaron y se volvieron a suspender en amortiguador (1-5 mg de proteína/mL) y se congelaron a -80°C . La concentración de proteínas se determinó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, usando reactivo BioRad y albúmina de suero de bovino como un estándar.

Ensayos de Enlazamiento al Receptor.

10

Se disolvió ^{125}I -Bolton Hunter CCK-8 (Amersham, 2000 Ci/mmol) en amortiguador para enlazamiento (pH 7.4, 100,000 cpm/25 μL) que contenía HEPES (20 mM), NaCl (118 mM), KCl (5 mM), MgCl_2 (5 mM) y EGTA (1 mM). El enlazamiento no específico se determinó con MK-329²⁰ (10 μM , CCK-A) o L-365,260²¹ (10 μM , CCK-B). Los compuestos de prueba se disolvieron en DMSO a una concentración concentrada de 100 veces la concentración del ensayo final y se diluyeron a concentraciones apropiadas con amortiguador para enlazamiento. Los ensayos de enlazamiento se realizaron por triplicado usando placas de 96 pozos, a las cuales se les adicionó lo siguiente secuencialmente: compuesto de prueba (25 μL),

25



40

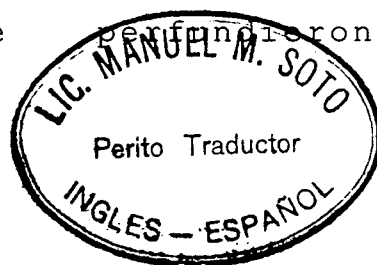


11/11/14

^{125} I-Bolton Hunter CCK-8 (25 μ L), amortiguador (pH 7.4, 150 μ L) y preparación del receptor (50 μ L). La concentración final de DMSO fue de 1% en todos los pozos de ensayo. Después de 3 horas a 30 °C la incubación se terminó por filtración rápida de la mezcla sobre filtros de vidrio (Whatman GF/B) con lavado subsecuente para eliminar el ligando no enlazado. La radiactividad de enlazamiento fue cuantificada por conteo gamma.

Mediciones del Calcio Intracelular:

Se cultivaron células CHO-K1 transfectadas establemente con receptores hCCK-A o hCCK-B, sobre cubreobjetos de vidrio, hasta una confluencia de 75-90%. Las células se cargaron por 50 minutos en medio de cultivo sin suero, que contenía FURA2-AM 5 mM y probenecid 2.5 mM. Se usó un analizador de calcio, JASCO CAF-102, para medir los cambios en la concentración del calcio intracelular, mediante técnicas radiométricas estándares, usando longitudes de onda de excitación de 340 nm y 380 nm. Las células se perfundieron con

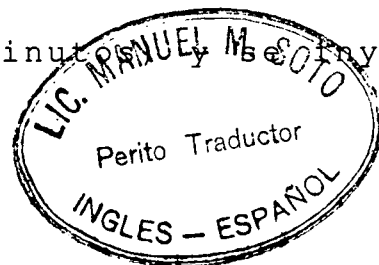




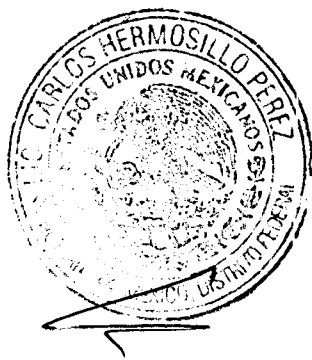
concentraciones crecientes de CCK-8 ($n = 2$) o compuestos ($n = 2$) hasta que se obtuvo un valor en la relación de 340/380. Se permitió un periodo de lavado/recuperación de al menos 10 minutos entre estimulaciones sucesivas. La respuesta máxima se normalizó hasta la respuesta máxima inducida por el CCK-8. Las EC_{50} se calcularon a la concentración requerida para inducir la respuesta semimáxima. Además de las curvas de concentración-respuesta del agonista, las células CHO-K1 que expresaban el CCK-B humano, se perfundieron por 1 hora con tres concentraciones de los compuestos (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} M, $n = 2$), luego se obtuvieron curvas de respuesta a la concentración, para el CCK-8 (de 10^{-12} a 10^{-6} M).

Ensayos de Anorexia:

Ratas Long-Evans Macho (225-300 g) se condicionaron por dos semanas a consumir una dieta líquida apetitosa (Bio-Serve F1657, Frenchtown, NJ) después de un ayuno de 2 horas. El día del pretratamiento las ratas se sometieron a ayuno (100 minutos) y se inyectaron



45



IP con el vehículo del fármaco (propilenglicol, PG, 1 mL/kg) y una precarga oral de solución salina (NaCl al 0.9%, 8 mL/kg). Se permitió el acceso a la dieta líquida por 20 minutos después y se midió el consumo a los 30, 90 y 180 minutos. Para calificar el estudio de tratamiento con el fármaco las ratas tenían que consumir al menos 8 mL de dieta líquida dentro de los primeros 30 minutos el día del pretratamiento. El día siguiente, seguido de la privación de 100 minutos, las ratas (de 8 a 10 animales por dosis) se trataron IP o PO con el vehículo (PG, 1 mL/kg) o varias dosis (de 0.01 a 10 μ mol/kg) del compuesto de prueba disuelto en PG (1 mL/kg), inmediatamente seguido de la precarga oral de solución salina. Se permitió nuevamente el acceso al alimento, 20 minutos después, y se midió el consumo de alimento a los 30, 90 y 180 minutos. Todos los datos de consumo de alimento se normalizaron para cada rata, a los respectivos valores del día del pretratamiento. La potencia se determinó a los 30 minutos y la eficacia a los 30 minutos, dosis de 1 μ mol/kg.

25



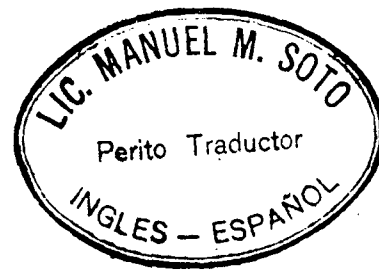


114
#7

Ensayo de vaciamiento de vesícula biliar en
ratón:

Makovec, F.; Bani, M.; Cereda, R.;
5 Chiste, R.; Paccini, M. A.; Revel, L.; Rovati,
L. C. Antispasmodic Activity on the Gallbladder
of the Mouse of CR1409 (Lorglumide), a Potent
Antagonist of Peripheral Cholecystokinin.
Pharmacol. Res. Commun. **1987**, 19, 41-51.

10



15

20

25



115
118

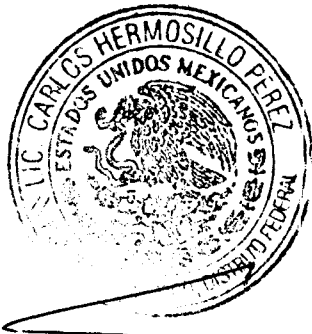
Comparación Farmacológica de Enantiómeros y Racematos

Ensayo	Enantiómero (+)	Enantiómero (-)	Racemato
<i>In vitro</i>			
GPGB EC ₅₀ (nM)	9.3	63	40
hCCK-A IC ₅₀ (nM)	148	191	123
hCCK-A EC ₅₀ (nM)	150	298	252
hCCK-B K _i (nM)	3.2	22.3	10
hCCK-B EC ₅₀ (nM)	Antagonista	Antagonista	Antagonista
Relación de Selectividad ¹	46	8.6	12.3
pApp (x 10 ⁻⁷ cm/s)	1.6		0.7
<i>in vivo</i>			
Anorexia en Rata			
ED ₅₀ IP (μmol/kg)	0.034	0.48	0.06
ED ₅₀ PO (μmol/kg)	1.1		2.0
Vesícula Biliar de Ratón			
Ensayo de Vaciamiento			
ED ₅₀ IP (μmol/kg)	0.002	0.012	0.007
ED ₅₀ PO (μmol/kg)	0.007	Inactivo ²	0.055

1. Relación de Selectividad = IC₅₀ (hCCK-A)/IC₅₀ (hCCK-B)

5 2. inactivo hasta 10 μmol/kg



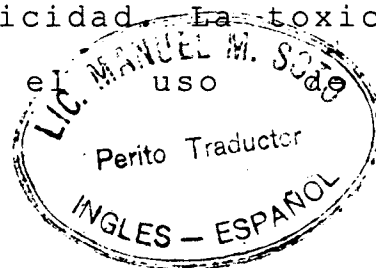


49/16

Tres actividades biológicas inesperadas distinguen el enantiómero (+) del enantiómero (-) y el racemato. Dos de estas actividades se refieren a la eficacia mejorada del CCK-A, que hubiese mejorado la actividad benéfica de este enantiómero. La tercera se refiere a la actividad antagonista hacia el CCK-B, del enantiómero (+), que hubiese probado ser benéfica por su menor toxicidad.

10 El enantiómero (+) fue cuatro veces más potente que el racemato en la prueba de vesícula biliar de cobayo aislada, in vitro, ("GPGB", por sus siglas en inglés). El enantiómero (+) fue ocho veces más potente que el racemato en el
15 ensayo de vaciamiento de vesícula biliar de ratón (dosificación oral). Se espera que esta potencia incrementada sea benéfica en el tratamiento de la estasis de la vesícula biliar y en el tratamiento de la obesidad, dado que la
20 estasis de la vesícula biliar es un problema crítico con la pérdida rápida de peso.

Los agentes anorécticos se usan crónicamente y por lo tanto es esencial que posean mínimo riesgo de toxicidad. La toxicidad
25 primaria asociada con el uso de la

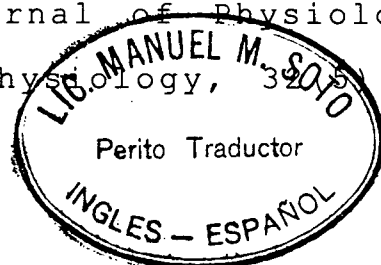




117
120

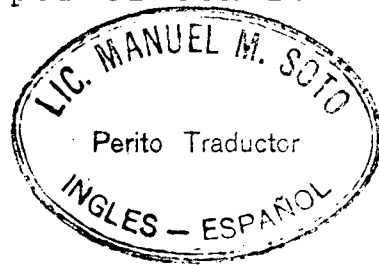
colecistocinina es concomitante con la actividad agonista del receptor CCK-B. La activación del receptor CCK-B está asociada principalmente con la ansiedad incrementada y con la secreción incrementada de ácido gástrico. La utilidad de antagonistas del CCK-B ha sido explorada, tanto para el desarrollo de agentes ansiolíticos como de agentes antiulcerosos. Ver, por ejemplo, Lowe, J, "Cholecystokinin-B Receptor Antagonists" en Exp. Opin. Ther. Patents, 5(3), pp 231-237 (1995).

El subtipo del receptor CCK, predominante, en el páncreas de roedores, es el subtipo CCK-A, y la activación de este subtipo induce la hiperestimulación pancreática y la hipertrofia en roedores. Ambas de estas actividades se consideran indeseables. Recientemente se ha reportado la distribución en el tejido, de los receptores CCK, en tejidos humanos. Sorprendentemente, el subtipo de receptor, predominante, en el páncreas humano, es el subtipo de receptor CCK-B. Ver, por ejemplo, Wank, S. A., "Cholecystokinin Receptors" en American Journal of Physiology - Gastrointestinal & Liver Physiology, 320: pp



G628-G646, (1995). Así, en humanos, la activación del receptor CCK-B (actividad agonista CCK-B) podría inducir la ansiedad y secreción de ácido gástrico, incrementados, así como la hiperestimulación e hipertrofia pancreática con el uso prolongado.

Para disminuir el riesgo de la actividad agonista del CCK-B, no deseable, in vivo, el compuesto preferido deberá tener afinidad por el receptor CCK-B y tener una actividad antagonista por el CCK-B, mensurable, en ensayos in vitro. Ambos enantiómeros y el racemato son antagonistas del CCK-B. Aunque todas las tres composiciones tienen afinidades (IC50) y eficacias (EC50) similares por el receptor CCK-A, el enantiómero (+) tiene la afinidad (IC50) y selectividad (46 veces) más altas por el receptor CCK-B. Así, se prefiere el enantiómero (+) tanto en términos de potencia y eficacia del CCK-A, como en términos de la potencia mínima respecto a los efectos secundarios tóxicos inducidos por el CCK-B.





119
H2REIVINDICACIONES

1. El ácido 3-{3-[1-(Isopropil-fenil-carbamoilmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-
5 benzo[b][1,4]diazepin-3-il]ureido}benzoico enantioméricamente enriquecido, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto enantioméricamente
10 enriquecido de conformidad con la reivindicación 1, en donde el enantiómero (+), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, es al menos el 90% de ese compuesto.

15 3. El compuesto enantioméricamente enriquecido, de conformidad con la reivindicación 1 en donde el enantiómero (+), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, es al menos el 99% de ese compuesto.

20

4. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto enantioméricamente enriquecido de conformidad con la reivindicación 1.

25

5. Una composición que





comprende el compuesto enantioméricamente enriquecido de conformidad con la reivindicación 2.

6. Una composición farmacéutica que
5 comprende el compuesto enantioméricamente enriquecido de conformidad con la reivindicación 3.

7. Un método para el tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el CCK-A, el
10 cual comprende la administración de la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 4.

8. Un método para el tratamiento de una
15 enfermedad o condición mediada por el CCK-A, el cual comprende la administración de la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 5.

20 9. Un método para el tratamiento de una enfermedad o condición mediada por el CCK-A, el cual comprende la administración de la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 6.

25





124/21

10. El método de conformidad con la reivindicación 7, en donde la enfermedad o condición es la obesidad, la estasis de la vesícula biliar, o la diabetes.

5

11. El método de conformidad con la reivindicación 8, en donde la enfermedad o condición es la obesidad, la estasis de la vesícula biliar, o la diabetes.

10

12. El método de conformidad con la reivindicación 9, en donde la enfermedad o condición es la obesidad, la estasis de la vesícula biliar, o la diabetes.

15

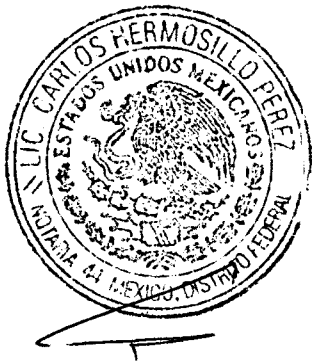
13. El método de conformidad con la reivindicación 7, en donde la enfermedad o condición es la obesidad.

20

14. El método de conformidad con la reivindicación 8, en donde la enfermedad o condición es la obesidad.

15. El método de conformidad con la
25 reivindicación 9, en donde la enfermedad o





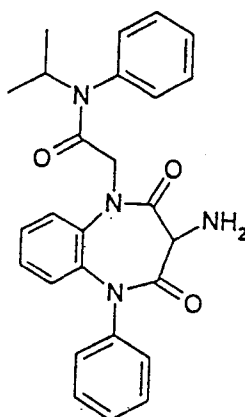
122
+25

condición es la obesidad.

16. Un proceso para la preparación de un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende:

(a) la separación del 3-[3-[1-(isopropil-fenil-carbamoilmetil)-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[b][1,4]diazepin-3-il]benzoico racémico, por cromatografía de líquidos de alta resolución, quirral;

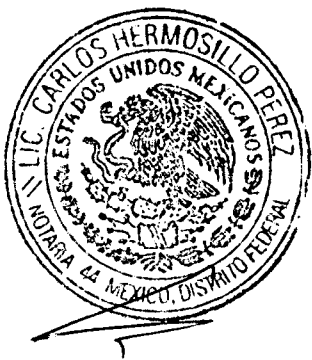
(b) la reacción del enantiómero apropiado de la amina de fórmula (II).



(II)

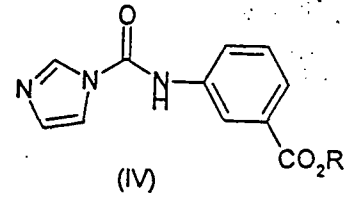
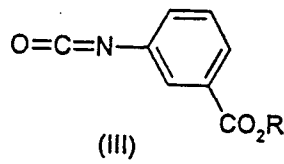
Con el isocianato de fórmula (III), imidazolidina de fórmula (IV) o carbamato de fenilo opcionalmente substituido de fórmula (V), seguido de la eliminación del grupo protector



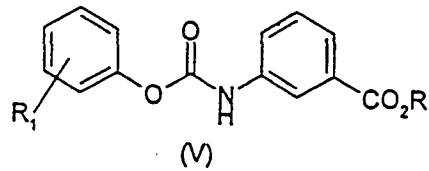


carboxi, R.

5

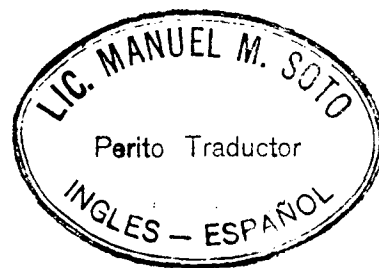


10



17. El uso de un compuesto de conformidad con cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3, en la fabricación de un medicamento para el uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por el CCK-A.

20



25

57

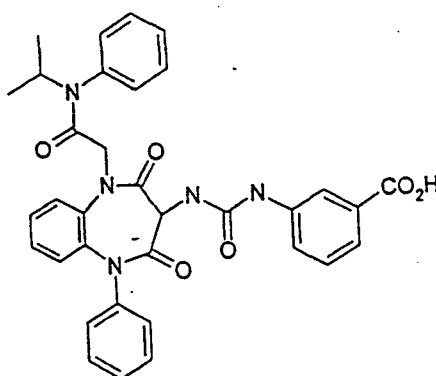


124127

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se describe un compuesto enantioméricamente enriquecido, de Fórmula (I).
5 Este compuesto es un agonista del CCK-A y por lo tanto es útil para el tratamiento de enfermedades o condiciones mediadas por el CCK-A, tales como la obesidad.

10



15

(I)

20





NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2000 JUN 14 P 2:45
JEFE DE LEGALIZACION
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
19/2203
CON FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DE SEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

1165



\$ 22.- VEINTIDOS US DOLAR

IMPUESTO DE TIMBRE

Y DERECHOS CONSULARES

No. 671 / 1413

Fecha .. 2/JUNIO/2000

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN MEXICO

Previa la confrontación correspondiente DA FE de que la firma que aparece en este documento es similar a la REGISTRADA aquí por

..... LIC. CARLOS HERMOSILLO PEREZ/NP. 44, D.F.

.....

María del Tránsito Bello Torres

María del Tránsito Bello Torres
Vicecónsul

----- CARLOS HERMOSILLO PEREZ, notario cuarenta y cuatro del Distrito Federal, C E R T I F I C A que la presente copia fotostática que consta de cincuenta y un fojas, es fiel reproducción de su original, que tuvo a la vista y con el cual la cotejó, habiéndose anotado el día de hoy, en el libro de registro de cotejos, con el número TRES MIL SETECIENTOS NOVENTA Y SIETE.-----

----- México, Distrito Federal, a veinticinco de mayo de dos mil.-----



03179

LEGALIZACION NUMERO:

Derechos

Pagados: * 39.00

Por acuerdo del C. Jefe de Gobierno del Distrito Federal LIC. RENATO GRESPO FLORES, --- SUBDIRECTOR CONSULTIVO Y DE CONTRATOS, - - de la Direc. Gral. Jurídica y de Estudios Legislativos LEGALIZA el sello y la firma que antecede del C. Lic. CARLOS HERMOSILLO PEREZ, - - - quien era Notario Público Número - - 44 - - del Distrito Federal en la fecha en que autorizó el presente documento:

México, D.F. a 31 de mayo de 2000

cct



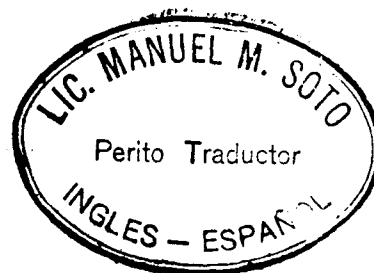
GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL
Dirección General Jurídica
y de Estudios Legislativos
Subdirección Consultiva y de
Contratos

El suscrito LIC. MANUEL MARTIN SOTO GUTIERREZ
perito traductor INGLES-ESPAÑOL, certifica que la
anterior es una traducción fiel y correcta al
idioma Español del documento adjunto.

México, D.F. a 22 de Mayo de 2000.



LIC. MANUEL MARTIN SOTO GUTIERREZ.





\$ 22.- VEINTIDOS US DOLAR.
..... IMPUESTO DE TIMBRE
Y DERECHOS CONSULARES

125

No. 672/1414.

Fecha ...2/JUNIO/2000.....

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN MEXICO

Previa la confrontación correspondiente DA FE de que la firma que aparece en
este documento es similar a la REGISTRADA aquí por
... LIC. CARLOS HERMOSILLO PEREZ/NP.44, D.F.

.....
(Mora del Tránsito Belio T.)

Maria del Tránsito Belio Torres
Vicecónsul

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
128202
Cuya firma aparece en el
documento de empresa
las funciones indicadas

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2000 JUN 14 P 3:45
JEFE DE LEGALIZACION
SANTAFE DE BOGOTA D.C.



INVESTOR IN PEOPLE

127
130

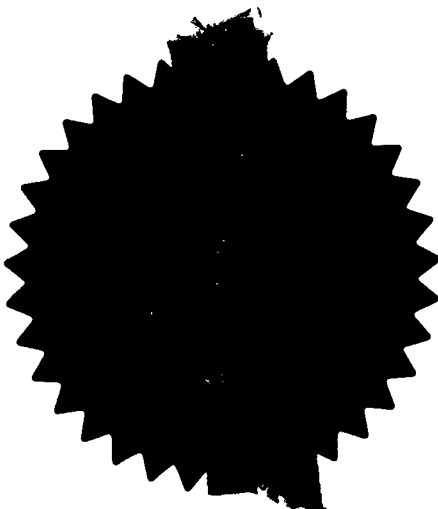
The Patent Office
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

I, the undersigned, being an officer duly authorised in accordance with Section 74(1) and (4) of the Deregulation & Contracting Out Act 1994, to sign and issue certificates on behalf of the Comptroller-General, hereby certify that annexed hereto is a true copy of the documents as originally filed in connection with the patent application identified therein.

In accordance with the Patents (Companies Re-registration) Rules 1982, if a company named in this certificate and any accompanying documents has re-registered under the Companies Act 1980 with the same name as that with which it was registered immediately before re-registration save for the substitution as, or inclusion as, the last part of the name of the words "public limited company" or their equivalents in Welsh, references to the name of the company in this certificate and any accompanying documents shall be treated as references to the name with which it is so re-registered.

In accordance with the rules, the words "public limited company" may be replaced by p.l.c., plc, P.L.C. or PLC.

Re-registration under the Companies Act does not constitute a new legal entity but merely subjects the company to certain additional company law rules.



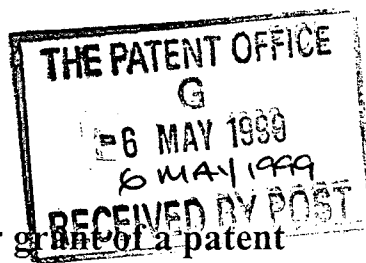
Signed

R. Mahoney

Dated

18 April 2000

Patents Act 1977
(Rule 16)



The Patent Office

06MAY99 E44490-1 001030
P01/7700 0.00 - 9910366.5

1/77

13/28

Request for grant of a patent

(See the notes on the back of this form. You can also get an explanatory leaflet from the Patent Office to help you fill in this form)

The Patent Office

Cardiff Road
Newport
Gwent NP9 1RH

1. Your Reference	MA/PU3611		
2. Patent application number (The Patent office will fill in this part)	06 MAY 1999		
3. Full name, address and postcode of the or of each applicant (underline all surnames)	GLAXO GROUP LIMITED GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY AVENUE GREENFORD MIDDLESEX UB6 0NN, GB		
Patents ADP number (if you know it)	473587003		
If the applicant is a corporate body, give the country/state of its corporation			
4. Title of the invention	1,5-BENZODIAZEPINE DERIVATIVES		
5. Name of your agent (if you know one)	MICHAEL ATKINSON (SEE CONTINUATION SHEET)		
"Address for service" in the United Kingdom to which all correspondence should be sent (including the postcode)	GLAXO WELLCOME PLC GLAXO WELLCOME HOUSE, BERKELEY AVENUE GREENFORD, MIDDLESEX UB6 0NN, GB		
Patents ADP number (if you know it)			
6. If you are declaring priority from one or more earlier patent applications, give the country and date of filing of the or of each of these earlier applications and (if you know it) the or each application number	Country	Priority application number (if you know it)	Date of Filing (day / month / year)
7. If this application is divided or otherwise derived from an earlier UK application, give the number and the filing date of the earlier application	Number of earlier application		Date of filing (day / month / year)
8. Is a statement of inventorship and of right to grant a patent required in support of this request? (Answer yes if: a) any applicant named in part 3 is not an inventor, or b) there is an inventor who is not named as an applicant, or c) any named applicant is a corporate body.	YES		

See note (d))

62

Patents Form 1/77

9. Enter the number of sheets for any of the following items you are filing with this form. Do not count copies of the same document

Continuation sheets of this form	1
Description	20
Claim(s)	3
Abstract	1
Drawing(s)	-

10. If you are also filing any of the following, state how many against each item

Priority Documents

Translations of priority documents

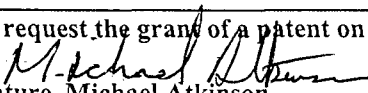
Statement of inventorship and right to grant of a patent (Patents Form 7/77)

Request for preliminary examination and search (Patent Form 9/77)

Request for substantive examination (Patent Form 10/77)

Any other documents (please specify)

11. I/We request the grant of a patent on the basis of this application


Signature Michael Atkinson

5 May, 1999

AGENT FOR THE APPLICANTS

12. Name and daytime telephone number of person to contact in the United Kingdom
- Kim Allen
0181-966 5721

Warning

After an application for a patent has been filed, the Comptroller of the Patent Office will consider whether publication of communication of the invention should be prohibited or restricted under Section 22 of the Patents Act 1977. You will be informed if it is necessary to prohibit or restrict your invention in this way. Furthermore, if you live in the United Kingdom, Section 23 of the patent Act 1977 stops you from applying for a patent abroad without first getting written permission from the Patent Office unless an application has been filed at least 6 weeks beforehand in the United Kingdom for a patent for the same invention and either no direction prohibiting publication or communication has been given, or any such direction has been received

a) Notes

If you need help to fill in this form or you have any questions, please contact the Patent Office on 0645 500505.

b) Write your answers in capital letters using black ink or you may type them.

c) If there is not enough space for all the relevant details on any part of this form, please continue on a separate sheet of paper and write "see continuation sheet" in the relevant part(s). Any continuation sheet should be attached to this form

If you have answered "Yes" Patents Form 7/77 will need to be filed.

d) Once you have filled in the form you must remember to sign and date it.

e) For details of the fee and ways to pay please contact the Patent Office.

129
132

Additional Agents

(See Page 1 No. 5)

NAME(S)

Alan HESKETH
William Michael DADSON
Michael ATKINSON
Karen CRAWLEY
Peter I. DOLTON
Hugh B. DAWSON
Wendy Anne FILLER
Ruth Elizabeth HACKETT
Catriona MacLeod HAMMER
Audrey HAMMETT
Graham M.H. LANE
Stephanie Anne LEAROYD
Helen Kaye QUILLIN
Michael A REED
Marion REES
Michael John STOTT
Andrew J. TEUTEN
Rachel M. THORNLEY
Janis Florence VOLCKMAN

ADDRESS

Glaxo Wellcome plc
Glaxo Wellcome House
Berkeley Avenue
Greenford
Middlesex
UB6 ONN
Great Britain

1,5-Benzodiazepine Derivatives

This invention relates to novel 1,5-benzodiazepine derivatives, to processes for their preparation, to pharmaceutical compositions containing them and to their use in medicine. More particularly, it relates to compounds which exhibit agonist activity for CCK-A receptors.

Cholecystikin (CCK) is a peptide found in the gastrointestinal tract and the central nervous system. see A.J. Prange *et al.*, *Ann. Reports Med. Chem.* 17, 31, 33 (1982), J. A. Williams, *Biomed Res.* 3, 107 (1982) and V. Mutt, *Gastrointestinal Hormones*, G.B.J. Green, Ed., Raven Press, N.Y., 169. CCK has been implicated *inter alia* as a physiological satiety hormone involved in appetite regulation, see Della-Ferra *et al.*, *Science*, 206, 471 (1979), Saito *et al.*, *Nature*, 289, 599, (1981), G.P. Smith, *Eating and Its Disorders*, A.J. Stunkard and E. Stellar, Eds, Raven Press, New York, 67 (1984), as a regulator of gallbladder contraction and pancreatic enzyme secretion, an inhibitor of gastric emptying, and as a neurotransmitter, see A.J. Prange, *supra*, J.A. Williams, *Biomed Res.*, 3, 107 (1982), J.E. Morley, *Life Sci.* 30, 479, (1982). Gastrin is a peptide involved in gastric acid and pepsin secretion in the stomach, see L. Sandvik, *et al.*, *American J. Physiology*, 260, G925 (1991), C.W. Lin, *et al.*, *American J. Physiology*, 262, G1113, (1992). CCK and gastrin share structural homology in their C-terminal tetrapeptide: Trp-Met-Asp-Phe.

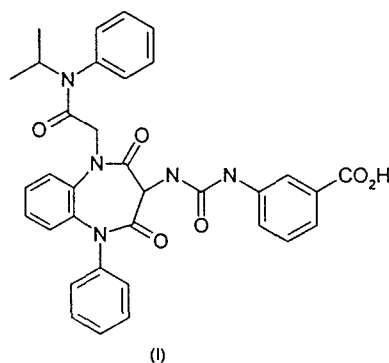
Two subtypes of CCK receptors have been identified, designated as CCK-A and CCK-B, and both have been found in the periphery and central nervous systems. It has recently been reported that CCK-B receptors are similar to the gastrin receptor, see Pisegna, J.R., de Weerth, A, Huppi, K, Wank, S.A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189, 296-303 (1992). CCK-A receptors are located predominantly in peripheral tissues including the pancreas, gallbladder, ileum, pyloric sphincter and vagal afferent nerve fibers; CCK-A receptors are found to a lesser extent in the brain, see T.H. Moran, *et al.*, *Brain Res.*, 362, 175-179

(1986), D.R. Hill, *et al.*, *Brain Res*, 4545, 101, (1988), D.R. Hill, *et al.*, *Neurosci Lett.*, 89, 133, (1988), R.W. Barret, *et al.*, *Mol. Pharmacol.*, 36, 285, (1989), D.R. Hill, *et al.*, *J. Neurosci*, 10, 1070 (1990), V. Dauge *et al.*, *Pharmacol Biochem Behav.*, 33, 637, (1989), while CCK-B receptors are found predominantly in the
5 brain, see V.J. Lotti and R.S.L Chang, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 83, 4923 (1986), J.N. Crawley, *Trends Pharm. Sci.*, 88, 232, (1991).

CCK agonist activity has been linked to inhibition of food intake in animals and thus weight loss, see Della-Fera, *et al*, *supra*, K.E. Asin, *et al*, *Intl. Conference on*
10 *Obesity*, abstract pp.40 (1990). It has been suggested that CCK acts in the periphery through vagal fibers and not directly on the brain to produce satiety, see Smith, G.P. and Cushin, B.J., *Neuroscience Abstr.*, 4, 180 (1978), Smith, G.P., Jerome, C., Cushin, B.J., Eterno, R., and Simansky, K.J., *Science*, 212, 687-689, (1981).

15 U.S. Patent No. 5,646,140 (Sugg, *et al.*) discloses certain 3-amino 1,5-benzodiazepine compounds which exhibit agonist activity for the CCK-A receptor thereby enabling them to modulate the hormones gastrin and cholecystokinin (CCK) in mammals. See in particular, the compound of Example 7. Certain of
20 these compounds also exhibit antagonist activity at CCK-B receptors.

Briefly, in one aspect, the present invention provides an enantiomerically enriched compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.



The compound of Formula (I) is 3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido}

benzoic acid. This compound has a chiral carbon on the benzodiazepine ring.

Applicants have found that the enantiomer which rotates light in the positive

5 direction, under the conditions described below, is preferred. This enantiomer is

hereinafter referred to as the (+) enantiomer. Applicants have found that this

isomer has improved properties over the racemic mixture and is therefore more

suitable than the racemic mixture for the treatment of obesity and other CCK-A

mediated diseases or conditions. As used herein, "enantiomerically enriched"

10 means that there is more of the (+) enantiomer than the (-) enantiomer as

opposed to the racemic mixture which has equal amounts of each isomer. As

used herein "the compound of this invention" or "the enantiomerically enriched

compound of this invention", and expressions containing these or similar phrases,

include pharmaceutically acceptable salts and solvates thereof. The "(+)

15 enantiomer" refers to the optical rotation of the enantiomer and not to salts and

solvates thereof. Preferred salts and solvates will be salts and solvates of the (+)

enantiomer of the compound of Formula (I) regardless of the optical rotation of

the salt or solvate.

20 Preferably, the (+) enantiomer is at least %90 of the total amount of the

enantiomerically enriched compound. More preferably, the (+) enantiomer is at

least %96 of the total amount of the compound. Most preferably, the (+)

enantiomer is at least %99 of the total amount of the compound.

25 In another aspect, the present invention discloses a pharmaceutical composition

comprising the enantiomerically enriched compound of this invention.

According to another aspect, the present invention provides the use of the

enantiomerically enriched compound of this invention or a pharmaceutically

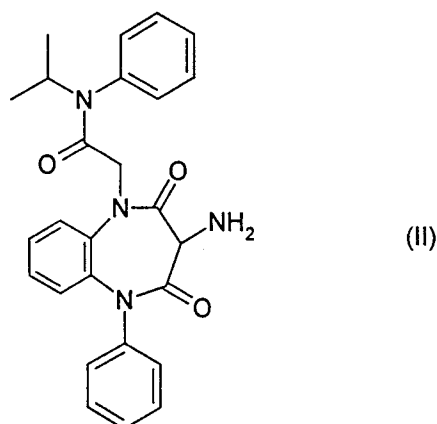
30 acceptable salt or solvate thereof for the manufacture of a medicament for the

treatment of conditions where modification of the effects of CCK and/or gastrin is of therapeutic benefit.

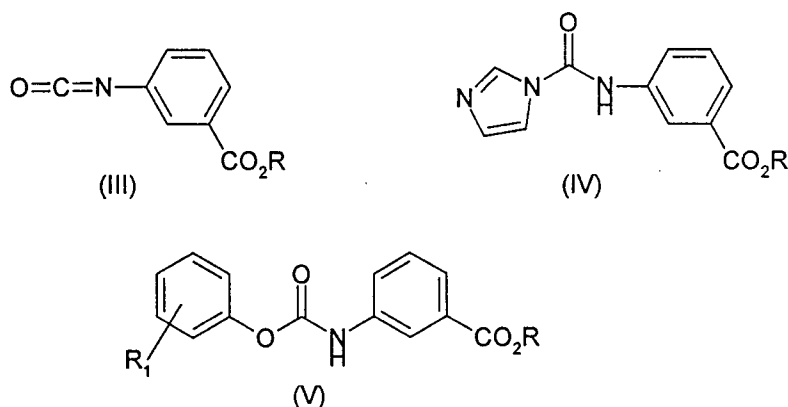
5 The (+) enantiomer of the present invention exhibits CCK-A agonist activity and can be considered a full cholecystokinin agonist in that it binds to CCK-A receptors and fully stimulates gallbladder contraction and reduces feeding in animal paradigms. Therefore, in a further aspect of the present invention, there is provided herein a method for the treatment, in a mammal, including man, of a CCK-A mediated disease or condition comprising administering to the patient a
10 therapeutically effective amount of a composition of this invention. For example, the composition of this invention should be useful for the treatment of obesity as well as related pathologies, such as hypertension, gallbladder stasis, and diabetes, indirectly through weight loss and directly through CCK-A mediated delayed gastric emptying. Moreover, the (+) enantiomer disclosed herein
15 provides for new approaches for inducing satiety, providing for appetite regulation and modifying food intake in mammals, especially humans, to regulate appetite, treat obesity and maintain weight loss.

20 The (+) enantiomer of this invention can be made by first making the racemic mixture as described in Example 7 in U.S. Patent No. 5,646,140 and then separating the enantiomers by chiral chromatography.

Alternatively the (+) enantiomer may be prepared by reaction of the appropriate enantiomer of the amine of formula (II);
25



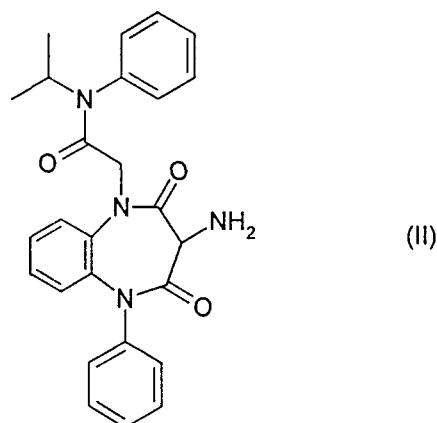
- with an isocyanate of formula (III; wherein R is a carboxyl protecting group e.g. t-butyl), an imidazolidine of formula (IV; wherein R is a carboxyl protecting group e.g. t-butyl) or an optionally substituted phenyl carbonate of formula (V; wherein R is a carboxyl protecting group e.g. t-butyl and R₁ is hydrogen or a conventional phenyl substituent e.g. NO₂) followed by removal of the carboxyl protecting group R.



- The reaction conveniently takes place in the presence of a suitable solvent such as an ether (e.g. tetrahydrofuran) or a halohydrocarbon (e.g. dichloromethane) or nitrile (e.g. acetonitrile) at a temperature in the range of 0-80°C.
- Conveniently the required enantiomer of the amine (II) may be used in the form of a salt thereof e.g. R-camphorsulphonic acid salt and in this embodiment the reaction is carried out in the presence of a base e.g. of a tertiary amine such as triethylamine.

The hydrolysis of the carboxyl protecting group may be carried out using conventional procedures. Thus for example when R is a t-butyl group this may be removed by hydrolysis with hydrochloric acid or trifluoroacetic acid using established procedures. (Protecting groups in Organic Synthesis T. Greene, Ed, Wiley Interscience, New York, p168, 1981).

The required enantiomer of the amine of Formula (II);



can be prepared by resolution of the corresponding racemic amine via chiral HPLC chromatography or through crystallization-induced asymmetric resolution via the R-camphorsulfonic acid salt.

The racemic amine II can be prepared by the method described in Intermediate 11 of US Patent No. 5,646,140.

Isocyanates of Formula (III) may be purchased or prepared by the reaction of the corresponding amine (VI) with phosgene or triphosgene in a suitable solvent such as methylene chloride. Imidazolides of Formula (IV) can be prepared by treatment of the corresponding amine (VI) with carbonyl diimidazole in a suitable solvent (dichloromethane, ether, tetrahydrofuran) at a temperature ranging from 0 - 80° C (conveniently at room temperature). The optionally substituted phenyl carbamates of Formula (V) can be prepared by the reaction of the corresponding

amine (VI) with the optionally substituted phenyl chloroformate in the presence of a base (pyridine, triethylamine) in a suitable solvent (dichloromethane) and at a temperature of 0 - 50° C. The amines of formula (VI) are either known compounds and can be prepared by procedures analogous to those used to
5 prepare the known compounds.

It will be appreciated by those skilled in the art that reference herein to treatment extends to prophylaxis as well as the treatment of established diseases or symptoms. Moreover, it will be appreciated that the amount of the preferred
10 enantiomer of the invention required for use in treatment will vary with the nature of the condition being treated and the age and the condition of the patient and will be ultimately at the discretion of the attendant physician or veterinarian. In general, however, doses employed for adult human treatment will typically be in the range of 0.02 - 5000 mg per day, e.g., 1-1500 mg per day. The desired dose
15 may conveniently be presented in a single dose or as divided doses administered at appropriate intervals, for example as two, three, four or more sub-doses per day.

While it is possible that the preferred enantiomer of the present invention may be
20 therapeutically administered as the raw chemical, it is preferable to present the active ingredient as a pharmaceutical composition. Accordingly, the present invention further provides for a pharmaceutical composition comprising the enantiomerically enriched compound of this invention together with one or more pharmaceutically acceptable carriers therefore and, optionally, other therapeutic
25 and/or prophylactic ingredients. The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

Formulations of the present invention include those especially formulated for oral,
30 buccal, parenteral, implant, or rectal administration, however, oral administration is preferred. For buccal administration, the composition may take the form of

tablets or lozenges formulated in conventional manner. Tablets and capsules for oral administration may contain conventional excipients such as binding agents, (for example, syrup, acacia, gelatin, sorbitol, tragacanth, mucilage of starch or polyvinylpyrrolidone), fillers (for example, lactose, sugar, microcrystalline cellulose, maize-starch, calcium phosphate or sorbitol), lubricants (for example, magnesium stearate, stearic acid, talc, polyethylene glycol or silica), disintegrants (for example, potato starch or sodium starch glycollate) or wetting agents, such as sodium lauryl sulphate. The tablets may be coated according to methods well-known in the art.

Alternatively, the preferred enantiomer of the present invention may be incorporated into oral liquid preparations such as aqueous or oily suspensions, solutions, emulsions, syrups or elixirs, for example. Moreover, formulations containing these the preferred enantiomer may be presented as a dry product for constitution with water or other suitable vehicle before use. Such liquid preparations may contain conventional additives such as suspending agents such as sorbitol syrup, methyl cellulose, glucose/sugar syrup, gelatin, hydroxyethylcellulose, carboxymethyl cellulose, aluminum stearate gel or hydrogenated edible fats; emulsifying agents such as lecithin, sorbitan mono-oleate or acacia; non-aqueous vehicles (which may include edible oils) such as almond oil, fractionated coconut oil, oily esters, propylene glycol or ethyl alcohol; and preservatives such as methyl or propyl p-hydroxybenzoates or sorbic acid. Such preparations may also be formulated as suppositories, e.g., containing conventional suppository bases such as cocoa butter or other glycerides.

Additionally, compositions the present invention may be formulated for parenteral administration by injection or continuous infusion. Formulations for injection may take such forms as suspensions, solutions, or emulsions in oily or aqueous vehicles, and may contain formulatory agents such as suspending, stabilizing and/or dispersing agents. Alternatively, the active ingredient may be in powder

form for constitution with a suitable vehicle (e.g., sterile, pyrogen-free water) before use.

5 The composition according to the invention may also be formulated as a depot preparation. Such long acting formulations may be administered by implantation (for example, subcutaneously or intramuscularly) or by intramuscular injection. Accordingly, the preferred enantiomer of the invention may be formulated with suitable polymeric or hydrophobic materials (as an emulsion in an acceptable oil, for example), ion exchange resins or as sparingly soluble derivatives as a
10 sparingly soluble salt, for example.

The compositions according to the invention may contain between 0.1 - 99% of the active ingredient, conveniently from 30 - 95% for tablets and capsules, and 3
15 - 50% for liquid preparations.

The following examples which are non-limiting illustrate the invention.

Intermediate 1

20 (+)-2-(3-Amino-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydrobenzo-[b][1,4]diazepin-1-yl)-N-isopropyl-N-phenylacetamide camphorsulfonic acid salt

(+/-)-2-(3-Amino-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydrobenzo-[b][1,4]diazepin-1-yl)-N-isopropyl-N-phenylacetamide (10g, 1equiv) and R-camphorsulfonic acid (4.98g, 0.95equiv) were stirred in tetrahydrofuran (35ml) and toluene (65ml) to give a solution. The solution was heated to 70°C with formation of a suspension.
25 Water (0.4ml) was added followed by a solution of 2-pyridinecarboxaldehyde (0.24g, 0.1equiv) in toluene (5ml). The mixture was heated at 70°C for 3h and then cooled to 25°C over 5h and stirred at 25°C for 16h. The suspension was chilled to 0-5°C for 1.5h. The solid was collected by filtration washing with toluene/tetrahydrofuran (2:1) (10ml). Drying in vacuo at 50°C yielded the title
30 compound as a white solid (12.6g, 83%). Chromatographic analysis: Eluent:

30% Isopropyl Alcohol, 70% Heptane + 0.05% Diethylamine; Column: 25cm x4.6mm i.d., Chiralpak AD; Flow rate: 1mL/minute; Temperature: 40 degrees C; Detection: UV 230nm; Injection volume: 10 μ L; Sample solution: 0.1mg/mL; sample in 30% Isopropyl alcohol, 70% Heptane. Sample solutions were injected immediately after preparation. Retention times: (+) enantiomer, 8.2 minutes. The unwanted (-) Enantiomer (12.7minutes) was below limits of detection.

Intermediate 2

3-Nitrobenzoic acid t-butyl ester

- 10 Potassium t-butoxide (3.82 g, 32.30 mmol) was added to a solution of 3 nitrobenzoyl chloride (5.00 g, 26.94 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (70 ml) and stirred under nitrogen for 2 hrs. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and partitioned between dichloromethane and water. After separating the phases, the aqueous layer is back-extracted with ethyl acetate. The organic
- 15 layers were combined, dried over anhydrous magnesium sulfate, filtered and then concentrated *in vacuo*. The crude product was purified on flash grade silica gel using 0-5% gradient of ethyl acetate in n-hexane. Fractions containing the product were combined, concentrated *in vacuo*, and then dried under high vacuum to provide the title compound as an oil (3.82 g, 17.1 mmol). ^1H NMR
- 20 (300 MHz, CDCl_3) δ = 1.63 (s, 9H); 7.62 (t, J =7.9 Hz, 1H); 8.29-8.41 (m, 2H); 8.78-8.80 (m, 1H). MS (CI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 224$.

Intermediate 3

3-Amino-benzoic acid t-butyl ester

- 25 A solution of 3-nitro-benzoic acid t-butyl ester (3.77 g, 16.9 mmol), in absolute ethanol (50 ml) was combined with palladium on carbon (10 wt%, 0.30 g) and stirred under atmospheric hydrogen for approximately 3 hrs. The reaction mixture was filtered through a pad of diatomaceous earth and then concentrated *in vacuo* to an oil which crystallized when dried under high vacuum providing the
- 30 title compound as a tan solid (3.28 g, 16.9 mmol). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ =

1.58 (s, 9H); 6.79-6.87 (m, 1H), 7.19 (t, J=8.5 Hz, 1H); 7.24-7.34 (m, 1H); 7.38 (d, J=8.0 Hz, 1H). MS (CI): $[M+H]^+ = 194$.

Intermediate 4

5 3-Isocyano-benzoic acid t-butyl ester

Triphosgene (13.428 g, 45.25 mmol) was added to a solution of 3-amino-benzoic acid t-butyl ester (26.50 g, 137.13 mmol) and triethylamine (38.23 mL, 274.28 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (600 ml) at 0-5 °C. The reaction mixture was stirred at 0-5 °C for 2h, then concentrated *in vacuo* to a white solid. The crude product was slurried in hexane (500 ml), filtered, and the filtrate was concentrated *in vacuo* to afford the title compound as an oil (21.54 g, 71.6%). The crude isocyanate was used without further purification. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 1.59 (s, 9H); 7.23 (bd, J=7.8 Hz, 1H); 7.36 (t, J=7.8 Hz, 1H); 7.69 (bs, 1H); 7.81 (d, J=7.8 Hz, 1H).

15 Intermediate 5

(+)-3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido} benzoic acid t-butyl ester

Intermediate (I; 66.30 g, 98.25 mmol) was slowly added to a solution of 3-Isocyano-benzoic acid t-butyl ester (21.54 g, 98.25 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (750 ml). Triethylamine (13.70 ml, 98.29 mmol) was added dropwise to the reaction mixture. The resulting reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was poured into water (3000 ml) to afford a white solid. The solid was collected by filtration washing with water (3 X 500 ml). Drying by vacuum filtration yielded the title compound as a white solid (65.01 g, 100%). The crude title compound was used without further purification. Chromatographic characterization: Eluent: 30%Isopropyl Alcohol, 70% Heptane + 0.05% Diethylamine. Column: 25cm x4.6mm i.d., Chiralpak AD; Flow rate: 1mL/minute; Temperature: 40 degrees C; Detection: UV 230nm; Injection volume: 10 μL ; Sample solution: 0.1mg/mL sample in 30%

Isopropyl alcohol, 70% Heptane. Sample solutions were injected immediately after preparation. Retention times: (+) enantiomer : 15.6 minutes. The unwanted (-) enantiomer: (13.3 minutes) was below the limits of detection.

5 Example 1

Chromatographic Resolution of Enantiomers

(+) and (-)-3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido} benzoic acid.

10 Racemic 3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido} benzoic acid was prepared as described for example 7 in U.S. Patent No. 5,646,140 and resolved by chiral HPLC under the following conditions: a 250 x 4.0 μ m (id) column, 5 μ m Diacel Chiracel OD-R; the eluent was 80:20:0.1:1, 80 parts acetonitrile, 20 parts water, 0.1 part triethylamine, and 1 part acetic acid; the UV detection wavelength was
15 230nm; the temperature was ambient; the flow rate was 1ml/min; and the injection volume was 20 μ l. Under these conditions the (+) enantiomer had a retention time of 6.50 minutes and the (-) isomer had a retention time of 3.89 minutes.

20 Example 2

(+)-3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido} benzoic acid

(+)-3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido} benzoic acid t-butyl ester
25 (65.01 g, 98.24 mmol) was stirred in 4N hydrochloric acid in dioxane (280 ml) at ambient temperature for 6h. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and the resulting solid/oil was triturated in water to afford a white solid. The white solid was collected by filtration and washed with water (2 X 500 ml). The crude product was dissolved in hot acetone (250 ml) and water (275 ml) was added
30 until the solution became cloudy. Additional acetone (40 ml) was added and the solution was heated until a clear solution was obtained. The solution was set

aside and allowed to cool. The resulting white solid was collected by filtration washed with water (3 X 100 ml) and dried under house vacuum (20-25 in Hg) at 40-50 °C to provide the title compound as a white solid (40.496 g, 68%). Analyzed for purity by chiral chromatography (see chromatographic resolution protocol). Optical rotation (0.712g in 100mL acetone) $[\alpha]_D = +84.3$. ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ = 0.95 (d, J=7.5 Hz, 3H); 0.97 (d, J=7.2 Hz, 3H); 4.18 (d, J=16.7 Hz, 1H); 4.48 (d, J=16.7 Hz, 1H); 4.78 (m, 1H); 5.02 (d, J=7.8 Hz, 1H); 6.91 (d, J=7.8 Hz, 1H); 6.95 (bd, J=8.1 Hz, 1H); 7.22-7.57 (m, 19H); 8.00 (s, 1H); 9.34 (s, 1H); 12.78 (s, 1H). MS (ES): [M+1] = 606.1; [M+Na] = 628.1; [M-1] = 604.1.

BIOLOGICAL ASSAYS

The (+) and (-)-enantiomers and the racemic mixture were characterized in the following assays. The results of these assays are summarized in the table below.

Guinea Pig Gallbladder Tissue Preparation. Gallbladders were removed from male Hartley guinea pigs sacrificed with CO₂ atmosphere. The isolated gallbladders were cleaned of adherent connective tissue and cut into two rings from each animal (2-4 mm in length). The rings were suspended in organ chambers containing a physiological salt solution (118.4 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM MgSO₄, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM KH₂PO₃, 25 mM NaHCO₃, 11.1 mM dextrose). The bathing solution was maintained at 37°C and aerated with 95% O₂/5% CO₂ to maintain pH = 7.4. Tissues were connected via gold chains and stainless steel mounting wires to isometric force displacement transducers (Grass, Model FT03 D). Responses were then recorded on a polygraph (Grass, Model 7E). One tissue from each animal served as a time/solvent control and did not receive test compound. Rings were gradually stretched (over a 120-min. period) to a basal resting tension of 1 gm which was maintained throughout the experiment. During the basal tension adjustment period, the rings were exposed to acetylcholine (10⁻⁶ M) four times to verify tissue contractility. The tissues were then exposed to a submaximal dose of sulfated CCK-8 (Sigma, 3 X 10⁻⁹ M).

After obtaining a stable response, the tissues were washed out 3 times rapidly and every 5 to 10 minutes for 1 hour to reestablish a stable baseline.

Agonist EC₅₀'s. Compounds were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) then diluted with water and assayed via a cumulative concentration-response curve to test compound (10^{-11} to 3×10^{-5} M) followed by a concentration-response curve to sulfated CCK-8 (10^{-10} to 10^{-6} M) in the presence of the highest concentration of the test compound. As a final test, acetylcholine (1 mM) was added to induce maximal contraction. A minimum of three determinations of activity were made for each test compound.

Antagonist pA₂'s. Gallbladder tissues from at least three different animals were incubated for 60 min with a given concentration (3 - 5 concentrations per analog) of the antagonist followed by a cumulative concentration response curve with CCK-8 or compound 1. One paired tissue from each animal did not receive the antagonist and served as the time/solvent control used to calculate the concentration ratio for the rightward shift in the CCK-8 concentration response. pA₂'s were determined by Schild analysis for a given number of observations²³. Upper and lower 95% confidence limits and slopes of the Schild plot are given for each pA₂.

Establishment of stable CCK receptor bearing cell lines. The cDNA clones for the human CCK-A¹⁸ or CCK-B¹⁹ receptors were ligated into pcDNA1-Neo vector from Invitrogen Corp (San Diego, CA) for direct transfection. DNA was prepared by the alkaline lysis method and transfected into CHO-K1 cells (ATCC, Rockville, MD) using the Lipofectin reagent²⁴ (Gibco BRL, Gaithersburg, MD). Stable transfectants were initially selected by the use of Geneticin (Gibco BRL) and receptor bearing resistant cells were enriched by fluorescence-activated cell sorting based on binding of Fluorescein-Gly-[(Nle_{28,31})-CCK-8. Clonal lines were subsequently established by the limiting dilution method.

Cell Membrane Preparation. CHO-K1 cells stably transfected with human CCK-A or CCK-B receptor cDNA were grown at 37°C under a humidified atmosphere (95% O₂/5% CO₂) in Ham's F12 medium supplemented with 5% heat inactivated fetal bovine serum. The cells were passaged twice weekly and grown to a density of 2-4 million cells/mL. The cells were collected by centrifugation (600 X g, 15 min, 4°C) and resuspended in buffer (20 mL, pH 7.4) containing TrisHCl (25 mM), EDTA (5 mM), EGTA (5 mM), phenyl sulfonyl fluoride (0.1 mM) and soybean trypsin inhibitor (100 µg/mL). Cells were disrupted with a motorized glass teflon homogenizer (25 strokes) and the homogenate was centrifuged at low speed (600 X g, 10 min, 4°C). The supernatant was collected and centrifuged at high speed (500,000 X g, 15 min 4°C) to pellet the particulate fraction. The low speed pellet was processed three additional times. High-speed particulate fractions were combined and resuspended in buffer (1-5 mg protein/mL) and frozen at -80°C. Protein concentration was determined according to manufacturer's directions using BioRad reagent and bovine serum albumin as standard.

Receptor Binding Assays. ¹²⁵I-Bolton Hunter CCK-8 (Amersham, 2000 Ci/mmol) was dissolved in binding buffer (pH 7.4, 100,000 cpm/25 µL) containing HEPES (20 mM), NaCl (118 mM), KCl (5 mM), MgCl₂ (5 mM) and EGTA (1 mM). Nonspecific binding was determined with MK-329²⁰ (10 µM, CCK-A) or L-365,260²¹ (10 µM, CCK-B). Test compounds were dissolved in DMSO at a stock concentration of 100 times the final assay concentration and diluted to appropriate concentrations with binding buffer. Binding assays were performed in triplicate using 96-well plates to which the following were added sequentially: test compound (25 µL), ¹²⁵I-Bolton Hunter CCK-8 (25 µL), buffer (pH 7.4, 150 µL) and receptor preparation (50 µL). The final concentration of DMSO was 1% in all assay wells. After 3 hours at 30°C, the incubation was terminated by rapid

filtration of the mixture onto glass filters (Whatman GF/B) with subsequent washing to remove unbound ligand. Bound radioactivity was quantified by gamma counting.

- 5 **Intracellular Calcium Measurements:** CHO-K1 cells stably transfected with hCCK-A or hCCK-B receptors were grown on glass coverslips to 75-90% confluency. The cells were loaded for 50 minutes in serum-free culture medium containing 5 mM FURA2-AM and 2.5 mM probenecid. A JASCO CAF-102 calcium analyzer was used to measure changes in intracellular calcium
- 10 concentration by standard ratiometric techniques using excitation wavelengths of 340 nm and 380 nm. Cells were perfused with increasing concentrations of CCK-8 ($n = 2$) or compounds ($n = 2$) until a plateau in the 340/380 ratio was achieved. A washout/recovery period of at least 10 minutes was allowed between successive stimulations. The maximal response was normalized to the maximal
- 15 response induced by CCK-8. EC_{50} 's were calculated at the concentration required to induce half-maximal response. In addition to the agonist concentration-response curves, the CHO-K1 cells expressing the human CCK-B receptor were perfused for 1 hour with three concentrations of compounds (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} M, $n = 2$), then a concentration response curves were acquired for
- 20 CCK-8 (10^{-12} to 10^{-6} M).

- Anorexia Assays:** Male Long-Evans rats (225-300 g) were conditioned for two weeks to consume a palatable liquid diet (Bio-Serve F1657, Frenchtown, NJ) after a 2 hr fast. On pretreatment day, rats were fasted (100 min) and injected IP
- 25 with drug vehicle (propylene glycol, PG, 1 mL/kg) and an oral preload of saline (0.9% NaCl, 8 mL/kg). Liquid diet access was provided 20 min later and consumption was measured at 30, 90 and 180 min. To qualify for the drug treatment study, rats had to consume at least 8 mL of liquid diet within the first 30 minutes on the pretreatment day. The next day, following the 100 min
- 30 deprivation, rats (8 - 10 animals per dose) were treated IP or PO with vehicle (PG, 1 mL/kg) or various doses (0.01 to 10 μ mol/kg) of test compound dissolved

in PG (1 mL/kg), immediately followed by the saline oral preload. Food access was again provided 20 min later and food intake was measured at 30, 90 and 180 min. All food intake data were normalized for each rat to the respective values from the pretreatment day. Potency was determined at 30 min and efficacy at the
5 30 min, 1 μ mol/kg dose.

Mouse gallbladder emptying assay: Makovec, F.; Bani, M.; Cereda, R.; Chiste, R.; Pacini, M. A.; Revel, L.; Rovati, L. C. Antispasmodic Activity on the Gallbladder of the Mouse of CR1409 (Lorglumide), a Potent Antagonist of
10 Peripheral Cholecystokinin. *Pharmacol. Res. Commun.* **1987**, 19, 41-51.

Pharmacological Comparison of Enantiomers & Racemate

Assay	(+) Enantiomer	(-) Enantiomer	Racemate
<u>in vitro</u>			
GPGB EC ₅₀ (nM)	9.3	63	40
hCCK-A IC ₅₀ (nM)	148	191	123
hCCK-A EC ₅₀ (nM)	150	298	252
hCCK-B K _i (nM)	3.2	22.3	10
hCCK-B EC ₅₀ (nM)	Antagonist	Antagonist	Antagonist
Selectivity Ratio ¹	46	8.6	12.3
pApp (x 10 ⁻⁷ cm/sec)	1.6		0.7
<u>in vivo</u>			
Rat Anorexia			
ED ₅₀ IP (μmol/kg)	0.034	0.48	0.06
ED ₅₀ PO (μmol/kg)	1.1		2.0
Mouse Gallbladder			
Emptying Assay			
ED ₅₀ IP (μmol/kg).	0.002	0.012	0.007
ED ₅₀ PO (μmol/kg)	0.007	Inactive ²	0.055

1. Selectivity ratio = IC₅₀ (hCCK-A)/IC₅₀ (hCCK-B)

2. Inactive up to 10 μmol/kg

5

Three unexpected biological activities distinguish the (+) enantiomer from the (-) enantiomer and the racemate. Two of these activities relate to enhanced CCK-A

efficacy, which should improve the beneficial activity of this enantiomer. The third relates to the CCK-B antagonist activity of the (+) enantiomer which should prove beneficial through decreased toxicity.

- 5 The (+) enantiomer was four-fold more potent than the racemate in the in vitro isolated guinea pig gallbladder test ("GPGB"). The (+) enantiomer was eight-fold more potent than the racemate in the mouse gallbladder emptying assay (oral dosing). This increased potency is expected to be beneficial in the treatment of gallbladder stasis and in the treatment of obesity, since gallbladder stasis is a
10 critical problem with rapid weight loss.

Anorectic agents are intended for chronic use and thus it is essential that they possess minimal risk for toxicity. The primary toxicity associated with the use of cholecystokinin is concomitant CCK-B receptor agonist activity. Activation of the
15 CCK-B receptor is primarily associated with increased anxiety and increased gastric acid secretion. The utility of CCK-B antagonists have been explored for both the development of anxiolytic agents and anti-ulcer agents. See, for example, Lowe, J, "Cholecystokinin-B Receptor Antagonists" in Exp. Opin. Ther. Patents, 5(3), pp 231-237 (1995).

20

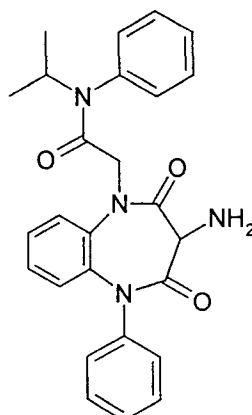
The predominant CCK receptor subtype in the rodent pancreas is the CCK-A subtype and activation of this subtype induces pancreatic hyperstimulation and hypertrophy in rodents. Both of these activities are considered to be undesirable. Recently, the tissue distribution of CCK receptors in human tissues has been
25 reported. Surprisingly, the predominate receptor subtype in human pancreas is the CCK-B receptor subtype. See, for example, Wank, S. A., "Cholecystokinin Receptors" in American Journal of Physiology - Gastrointestinal & Liver Physiology, 32(5):, pp G628-G646, (1995). Thus, in humans, activation of the CCK-B receptor (CCK-B agonist activity) could induce increased anxiety and
30 gastric acid secretion, as well as pancreatic hyperstimulation and hypertrophy with long term use.

In order to decrease the risk of undesirable in vivo CCK-B agonist activity, the preferred compound should have affinity for the CCK-B receptor and have measurable CCK-B antagonist activity in in vitro assays. Both enantiomers and the racemate are CCK-B antagonists. Although all three compositions have similar human CCK-A receptor affinities (IC₅₀) and efficacies (EC₅₀), the (+) enantiomer has the highest CCK-B receptor affinity (IC₅₀) and selectivity (46-fold). Thus, the (+) enantiomer is preferred both in terms of CCK-A potency and efficacy, as well as in terms of the minimal potential for CCK-B induced toxic side effects.

What is Claimed is:

1. Enantiomerically enriched 3-{3-[1-(Isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]-ureido} benzoic acid, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.
5
2. The enantiomerically enriched compound of Claim 1 wherein the (+) enantiomer, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, is at least 90% of said compound.
10
3. The enantiomerically enriched compound of Claim 1 wherein the (+) enantiomer, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, is at least 99% of said compound.
- 15 4. A pharmaceutical composition comprising the enantiomerically enriched compound of Claim 1.
5. A pharmaceutical composition comprising the enantiomerically enriched compound of Claim 2.
20
6. A pharmaceutical composition comprising the enantiomerically enriched compound of Claim 3.
7. A method for treating a CCK-A mediated disease or condition comprising
25 administration of the pharmaceutical composition of Claim 4.
8. A method for treating a CCK-A mediated disease or condition comprising administration of the pharmaceutical composition of Claim 5.
- 30 9. A method for treating a CCK-A mediated disease or condition comprising administration of the pharmaceutical composition of Claim 6.

10. The method of Claim 7 wherein said disease or condition is obesity, gallbladder stasis, or diabetes.
- 5 11. The method of Claim 8 wherein said disease or condition is obesity, gallbladder stasis, or diabetes.
12. The method of Claim 9 wherein said disease or condition is obesity, gallbladder stasis, or diabetes.
- 10 13. The method of Claim 7 wherein said disease or condition is obesity.
14. The method of Claim 8 wherein said disease or condition is obesity.
- 15 15. The method of Claim 9 wherein said disease or condition is obesity.
16. A process for the preparation of a compound as claimed in claim 1 which comprises:
 - 20 (a) resolution of racemic 3-[3-[1-(isopropyl-phenyl-carbamoylmethyl)-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[b][1,4]diazepine-3-yl]benzoic acid by chiral hplc;
 - (b) reaction of the appropriate enantiomer of the amine of formula (II).

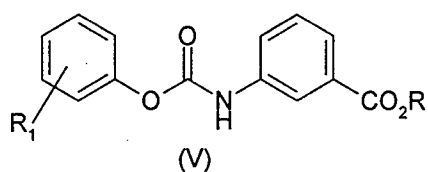
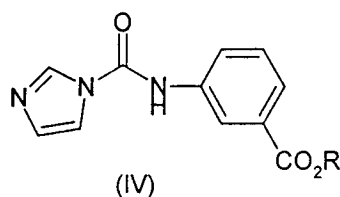
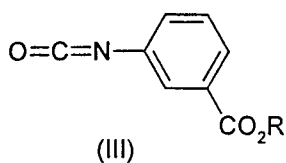


(II)

181
144

With the isocyanate of formula (III), imidazolid of formula (IV) or optionally substituted phenyl carbamate of formula (V) followed by removal of the carboxy protecting group R.

5

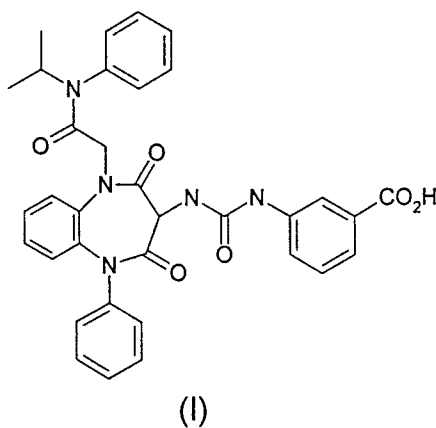


17. The use of a compound as claimed in any of claims 1 to 3 in the manufacture of a medicament for use in the treatment of CCK-A mediated diseases.

10

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

An enantiomerically enriched compound of Formula (I) is disclosed. This compound is a CCK-A agonist and is therefore useful for the treatment of CCK-A mediated diseases or conditions, such as obesity.



**La
Oficina de
Patentes**

**La Oficina de Patentes
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ**

Yo, el abajo firmante, un funcionario en ejercicio debidamente autorizado de acuerdo con la Sección 74(1) y (4) del Acta de Desregulación y Acta de Renuncia por Contrato de 1994 para firmar y otorgar certificados a nombre del Administrador General, por la presente certifico que lo anexo a la misma es una copia verdadera de los documentos que se presentaron originalmente en relación con la solicitud de patente identificada en la misma.

De acuerdo con los Reglamentos de Patente 1982 (Registro de compañías), si una compañía mencionada en este certificado y cualesquiera documentos anexos, tiene re-registro bajo el Acta de Compañías 1980 con el mismo nombre con el cual se registró inmediatamente antes del re-registro inmediatamente antes del re-registro, a excepción de las sustituciones como, o inclusiones como, la última parte del nombre de las palabras "compañía pública limitada" o sus equivalentes en Gales, se refieren al nombre de la compañía de este certificado y cualesquiera documentos adjuntos, deberán ser tratados como referencias al nombre con el cual se re-registró.

De acuerdo con los reglamentos, las palabras "compañía pública limitada" pueden ser reemplazadas por p.l.c., plc. P.L.C., o PLC.

El re-registro bajo el Acta de Compañías no constituye una nueva entidad legal, sino solamente somete a la compañía a ciertas leyes de compañía adicionales.

(SELLO)

Firma: (Rúbrica)

Fecha: 17 de Abril del 2000

Una Agencia Ejecutiva del Departamento de Comercio e Industria





La
Oficina de
Patentes

Acta de Patentes de 1977
(Regla 16)

143-2
147
1/77

Solicitud para el Otorgamiento de una
Patente

(Véanse notas en la parte trasera de esta
forma. También se puede obtener un folleto
explicativo en la oficina de patentes para
ayudarle a presentar esta forma)

LA OFICINA DE PATENTES
5 DE ABRIL DEL 2000
RECIBIDO POR CORREO
(IMPRESIÓN DE LA MAQUINA
REGISTRADORA)

La Oficina de Patentes

Cardiff Road
Newport
Gwent NP9 1RH

1. Su referencia MA/PG3974

2. Número de solicitud de patente
(Esta parte la leerá la oficina de patentes) 0008179.4

3. Nombre completo, dirección y código postal del
solicitante o de cada uno de los solicitantes
(Subraye todos los apellidos)
GLAXO GROUP LIMITED
GLAXO WELLCOME HOUSE
BERKELEY AVENUE
GREENFORD
MIDDLESEX
UB6 ONN
GB

Número de patentes ADP (en caso que lo conozca) 473587003
Si el solicitante es una corporación, proporcione el
país/estado de su incorporación GB

4. Título de la invención PROCESO QUIMICO

5. Nombre del Agente (en caso de que exista uno) MICHAEL ATKINSON
(VER HOJA DE CONTINUACIÓN)

“Dirección para servicio” en el Reino Unido a la
cual debe enviarse la correspondencia (favor de
incluir el código postal)
GLAXO WELLCOME PLC
GLAXO WELLCOME HOUSE, BERKELEY AVE.
GREENFORD, MIDDLESEX
UB6 ONN, GB

Número ADP de patentes (en caso de conocerse) 6990527001

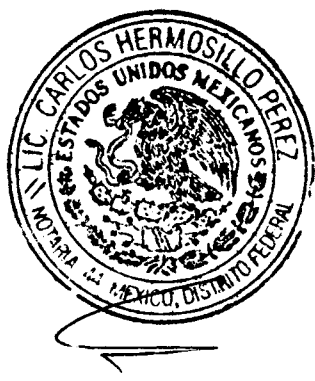
6. Si se declara una prioridad a partir de una o más
solicitudes para patente anteriores, proporcione el
país y fecha de presentación de la solicitud o de
cada una de las solicitudes anteriores y (en caso de
que se conozca) el número de solicitud o de cada
uno de los números de solicitud.
País Número de Solicitud de Fecha de
Prioridad presentación
(si se conoce) (día/mes/año)

7. Si esta solicitud está dividida o se deriva de
alguna otra manera de una solicitud británica
anterior, proporcione el número y la fecha de
presentación de la solicitud anterior
Número de Solicitud Anterior Fecha de
presentación
(día/mes/año)

8. ¿Existe una declaración de inventor y de derecho
a cesión de una patente requerida en apoyo a esta
solicitud? SI

a) cualquier solicitante nombrado en la parte 3 no
sea un inventor, o





- b) existe un inventor que no haya sido nombrado como un solicitante, o
c) cuando cualquier solicitante mencionado es un cuerpo corporativo;

9. Introduzca el número de hojas para cualquiera de los capítulos siguientes que le presenten con esta forma. No incluya las copias del mismo documento

Hojas que siguen a esta forma	1
Descripción	6
Reivindicación(es)	2
Resumen	-
Dibujo(s)	-

10. Si también se presenta alguno de los siguientes documentos, por favor indíquese la cantidad en el lado derecho de cada artículo.

Documento de prioridad	
Traducción de los documentos de prioridad	
Declaración de inventor y derechos de otorgamiento para una patente (forma de patente 7/77)	
Solicitud para examen preliminar y búsqueda (forma de patentes 9/77)	
Solicitud para examen sustantivo (forma de patentes 10/77)	
Cualquier otro documento (por favor especifique)	

11.

Yo/nosotros solicitamos el otorgamiento de una patente en base a esta solicitud
(rúbrica)

MICHAEL AKTINSON

MANDATARIO PARA LOS SOLICITANTES

Fecha: 4 de Abril del 2000

12. Nombre y número telefónico diurno de la persona para establecer contacto en el Reino Unido Kim Allen
020-8966 5721

Advertencia

Después de que se ha depositado una solicitud para una patente, el controlador de la oficina de patentes considerará si se debe prohibir o restringir la publicación o comunicación de la invención, bajo la Sección 22 del Acta de Patentes de 1977. En caso necesario, se le informará de prohibir o restringir su invención de esta manera. Además, si usted vive en el Reino Unido, la Sección 23 del Acta de Patentes de 1977 impide que se apliquen patentes en el extranjero sin solicitar primero un permiso por escrito a la Oficina de Patentes, a menos que se haya depositado una solicitud por lo menos seis semanas anteriores en el Reino Unido para una patente para la misma invención, y si no se ha proporcionado instrucción para prohibición de publicación o comunicación, o se ha recibido una de esas instrucciones.

a) Notas

Si necesita ayuda para llenar esta forma o si tiene alguna pregunta, favor de contactar a la Oficina de





Patentes al 0645 500505.

b) Escriba sus respuestas en letras mayúsculas usando tinta negra o puede escribirlas a máquina.

c) Si no hay suficiente espacio para todos los detalles relevantes o cualquier parte de esta forma, favor de continuar en una hoja separada y escribir "ver hoja de continuación" en la(s) parte(s) relevante(s). Cualquier hoja de continuación deberá anexarse a esta forma. Si se ha contestado "Si" se necesitará llenar la Forma de Patentes 7/77.

d) Una vez que llenada la forma debe recordar firmarla y poner la fecha.

e) Para conocer detalles de los derechos y formas de pago, favor de ponerse en contacto con la Oficina de Patentes.





Handwritten signature or mark.

46 150

Agentes Adicionales
(Ver Página 1 No. 5)

NOMBRE (S)

Alan HESKETH
Michael ATKINSON
Karen CRAWLEY
Peter I. DOLTON
Hugh B. DAWSON
Wendy Anne FILLER
Christiane Elizabeth FISHER
Ruth Elizabeth HACKETT
Audrey HAMMETT
Siân Catherine HOCKLEY
Graham M.H. LANE
Stephanie Anne LEAROYD
Helen Kaye QUILLIN
Michael A REED
Marion REES
Michael John STOTT
Andrew J. TEUTEN
Rachel M. THORNLEY
Janis Florence VOLCKMAN

DIRECCIÓN

Glaxo Wellcome plc
Glaxo Wellcome House
Berkeley Avenue
Greenford
Middlesex
UB6 ONN
Gran Bretaña



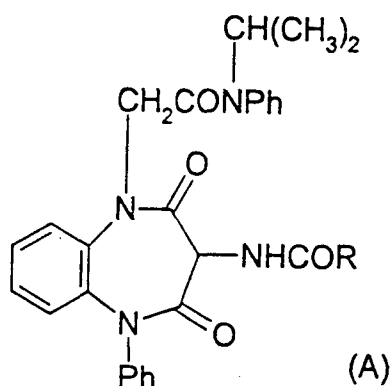
147
151

PROCESO QUÍMICO

La presente invención se refiere a un proceso mejorado para preparar un compuesto intermedio para el uso en la síntesis de los agonistas de la Colecistocinina (CCK, por sus siglas en inglés).

La Publicación Internacional WO 94/24149 describe una clase de derivados de 1,5-benzodiazepina que tienen una acción agonista en el receptor CCK-A.

Un grupo interesante, particular, de los derivados de la 1,5-benzodiazepina, descrito en la presente, puede ser representado por la fórmula general (A)



Los compuestos de fórmula A se preparan convenientemente a partir del derivado amino (I).

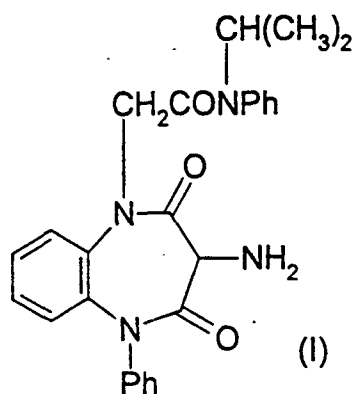


82



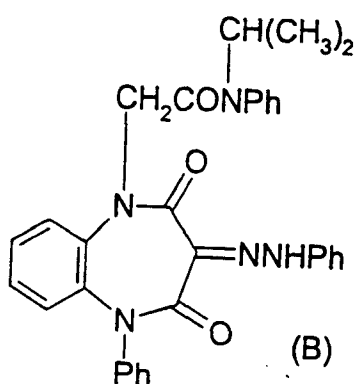
148
+52

5



10 La Publicación Internacional WO
94/24149 describe que esos derivados de 3-amino-
1,5-benzodiazepina pueden ser preparados
mediante la reducción de la fenilhidrazona
correspondiente y la preparación del compuesto
15 de fórmula (I) mediante la reducción de la
fenilhidrazona correspondiente (B), y
específicamente se describe en el compuesto
intermedio (II) de la misma

20



25

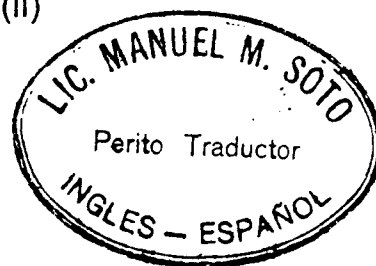
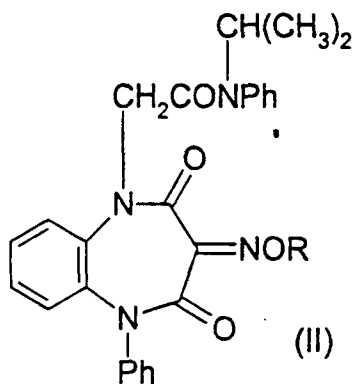




T

La reducción de la hidrazona (B) para dar la amina (I) da por resultado también la formación de anilina. Este es un producto altamente tóxico, la generación del cual deberá evitarse del todo, si es posible, en un proceso comercial, y por lo tanto existe la necesidad de encontrar una síntesis alternativa para la amina primaria (I) que evite la generación de la anilina y que proporcione el producto requerido, con un buen rendimiento.

Se ha encontrado que la amina requerida (I) se puede preparar con alto rendimiento y sin la generación de productos secundarios tóxicos, mediante la reducción y la hidrogenólisis concomitantes, de la oxima correspondiente (II), en donde R es un grupo bencilo opcionalmente substituido.



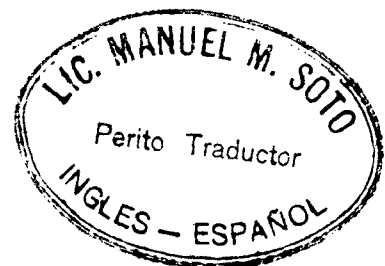


De esta manera, la presente invención proporciona un proceso para preparar la amina (I) mediante la reducción e hidrogenólisis concomitantes, de la oxima (II), seguida, si se desea, del aislamiento del compuesto, como una sal de adición de ácido, del mismo.

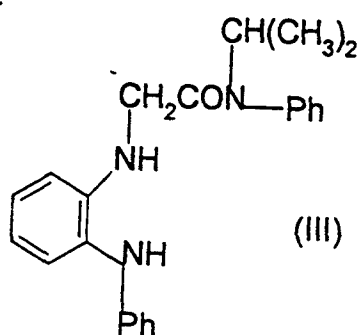
La reducción e hidrogenólisis concomitante, se lleva a cabo convenientemente usando un catalizador de paladio, por ejemplo catalizador de paladio sobre carbón, en la presencia de hidrógeno o formiato de amonio, en un solvente tal como un alcohol, por ejemplo etanol o isopropanol, o un etanol acuoso, por ejemplo etanol acuoso, o tetrahidrofurano.

Para la reacción el grupo R es convenientemente bencilo o un grupo bencilo substituido, por ejemplo el p-metoxibencilo o benzhidrilo.

La oxima (II) se puede preparar convenientemente mediante la reacción del derivado de orto-fenilendiamina (III)

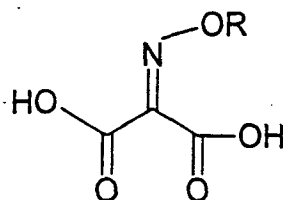






5

con un derivado activado del diácido (IV), en
donde R es un grupo bencilo opcionalmente
10 substituido.



15

(IV)

Convenientemente, el derivado activado
del diácido (IV) es el haluro de diacilo
correspondiente, por ejemplo el cloruro, y este
20 se prepara in situ, mediante la reacción del
diácido (IV) con un haluro de oxalilo, por
ejemplo cloruro de oxalilo. La reacción se lleva
a cabo convenientemente en un solvente aprótico,
tal como éster, por ejemplo, acetato de etilo,
25 diclorometano, tolueno, o dietoxiéter, o



86



mezclas de los mismos, y en la presencia de dimetilformamida.

El diácido (IV) se prepara convenientemente mediante la reacción de un
5 cetomalonato de dialquilo, por ejemplo cetomalonato de dietilo, con el derivado de hidroxilamina correspondiente, RONH_2 , en un solvente tal como un alcohol o compuestos volátiles metilados, industriales, y en la
10 presencia de una base, por ejemplo, piridina, seguido de la reacción con solución acuosa de hidróxido de sodio.

Los siguientes ejemplos, que son no limitantes, ilustran la invención.

15 En los ejemplos, las abreviaturas EtOAc = acetato de etilo; MeOH = metanol, DMF = N,N-dimetilformamida; IPA = alcohol isopropílico; IMS = compuestos volátiles metilados, industriales.

20

Compuesto Intermedio 1

2-[(benciloxi)imino]malonato de dietilo

Se adicionó cetomalonato de dietilo (60
25 gramos) a 20 °C, a una suspensión agitada de 0-





153
157

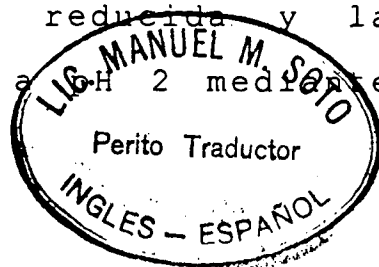
bencilhidroxilamina (57.8 gramos) en IMS (500 ml) que contenían piridina (30 ml). La reacción se calentó a 75 °C durante 4 horas. La reacción se enfrió y los solventes se eliminaron bajo presión reducida. El residuo se dividió entre EtOAc (500 ml) y agua (300 ml) y la capa orgánica se separó, se lavó con agua (250 ml) y se secó sobre MgSO₄. Los solventes se evaporaron para dar el compuesto del título 95.3 g, como un aceite incoloro (99%, aprox. 3% p/p de EtOAc residual) el cual se usó sin purificación adicional.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), 7.4 (m, 5H), 5.35 (s, 2H), 4.35 (m, 4H), 1.3 (m, 6H).

Compuesto Intermedio 2

Acido 2-[(benciloxi)imino]malónico

A una solución del compuesto intermedio 1 (40 g) en MeOH (80 ml) se adicionó NaOH 2M (200 ml) durante 20 minutos. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El MeOH se eliminó bajo presión reducida y la solución residual se acidificó a pH 2 mediante





154
158

la adición, gota a gota, de HCl concentrado (aprox. 30 ml) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 35 °C con enfriamiento. Se formó una pasta líquida, espesa, de color blanco, la cual se diluyó con agua (50 ml) para auxiliar en la movilidad. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con agua enfriada (25 ml) y se secaron in vacuo a 55 °C para dar el compuesto del
10 título como un sólido blanco (17 g) el cual se encontró que contenía aproximadamente 10 % p/p de sales inorgánicas residuales. El rendimiento corregido fue de 45%. Se usó sin purificación adicional.

15

RMN ¹H (300 MHz, D₂O), 7.4 (m, 5H), 5.2 (s, 2H)

Compuesto Intermedio 3

2-[-3-[benciloxi)imino]-2,4-dioxo-5-fenil-
20 2,3,4,5-tetrahidro-1H-1,5-benzodiazepinil)-N-
isopropil-N-fenilacetamida

Se adicionó cloruro de oxalilo (38.3 gramos) gota a gota (aprox. 1 ml) a una
25 suspensión agitada del compuesto intermedio 2





(40 gramos, corregidos por el contenido de sal, en 31.4 gramos) en EtOAc (200 ml) que contenían DMF (0.5 ml, 5 % en mol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 0.5 horas y luego se filtró a través de una almohadilla de Dicalite, se lavó con EtOAc (40 ml) para dar una solución de color amarillo claro. La solución se adicionó (en aproximadamente 5 minutos) a una pasta líquida agitada de N-isopropil-N-fenil-2-(2-fenilaminofenilamino)-acetamida (50 g) en EtOAc (120 ml) a 25 °C. La mezcla se calentó a 60 °C y se formó una solución de color púrpura oscuro. Después de 1 hora, se eliminó el EtOAc (200 ml) mediante destilación atmosférica. Se adicionaron IPA (120 ml) y agua (40 ml) y la mezcla se destiló adicionalmente para eliminar más solvente (80 ml). Se adicionaron IPA (40 ml) y agua (40 ml) y se destiló una cantidad adicional del solvente (80 ml). La mezcla de reacción se enfrió hasta 25 °C durante 1.5 horas y los sólidos se reunieron por filtración. Los sólidos se lavaron con IPA (2 x 120 ml), agua (1 x 120 ml) y finalmente con IPA nuevamente (1 x 40 ml) y luego se secaron in vacuo a 55 °C para dar el compuesto del título como un polvo de color rosa



90



150
160

salmón (56.6 gramos).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) mezcla 2:1 de isómeros aproximadamente la oxima 7.6-6.95 (m, 18H), 6.9 (t, 1H), 5.3 (m, 2H), 4.95 (m, H), 4.65 (d, 0.33 H), 4.4 (d, 0.67 H), 4.1 (d, 0.67 H), 4.0 (d, 0.33 H), 0.95 (m, 6H).

Ejemplo 1

10 (±)-2-(3-Amino-2,4-dioxo-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-[b][1,4]diazepin-1-il)-N-isopropil-N-fenilacetamida

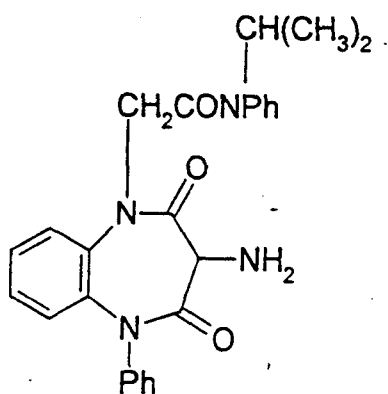
A una suspensión agitada del compuesto
15 intermedio 3 (3 gramos) y formiato de amonio (2.08 gramos) en IMS (30 ml) y agua (3 ml) se adicionó Pd al 5%/C (50 % p/p de agua) (0.25 gramos). La mezcla se calentó bajo atmósfera de nitrógeno a 60 °C durante toda la noche. La
20 mezcla de reacción caliente se filtró a través de Dicalite para eliminar el catalizador. El catalizador se lavó con IMS caliente (60 ml) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título como
25 un sólido blanco (2.34 gramos).



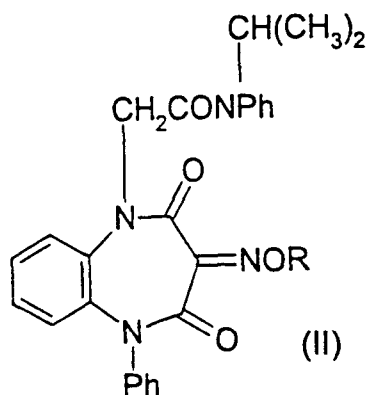


761

5



15



25

MANUEL M. SOTO
Lic. Manuel M. Soto
Perito Traductor
INGLES - ESPAÑOL

92



[Handwritten signature]

158
462

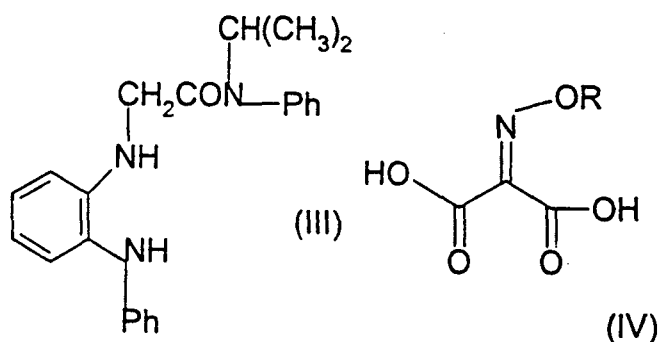
reductora, seguido, si se requiere, por el aislamiento del compuesto, como una sal de adición de ácido del mismo.

5 2. Un proceso de conformidad con la reivindicación 1, en donde la hidrogenólisis reductora se lleva a cabo usando catalizador de paladio.

10 3. Un proceso de conformidad con la reivindicación 1 o 2, en donde el compuesto de fórmula (II) ha sido preparado mediante la reacción del derivado de ortofenilendiamina (III) con un derivado activado del diácido (IV),

15

20



en donde R es un grupo bencilo opcionalmente substituido.

25



CP.



159
163

4. Un proceso de conformidad con la reivindicación 3, en donde el derivado activado del diácido (IV) es el cloruro de diacilo.

5. Un proceso de conformidad con cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en donde R es bencilo

10



15



----- CARLOS HERMOSILLO PEREZ, notario cuarenta y cuatro del Distrito Federal, C E R T I F I C A que la presente copia fotostática que consta de diecinueve fojas, es fiel reproducción de su original, que tuvo a la vista y con el cual la cotejó, habiéndose anotado el día de hoy, en el libro de registro de cotejos, con el número TRES MIL SETECIENTOS NOVENTA Y SIETE.-----

----- México, Distrito Federal, a veinticinco de mayo de dos mil.-----



03180

con sello

LEGALIZACION NUMERO:

Derechos

Pagados: \$ 39.00

Por acuerdo del C. Jefe de Gobierno del Distrito Federal
LIC. RENATO CRESPO FLORES, SUBDIRECTOR CONSULTIVO Y DE
CONTRATOS, - de la Direc. Gral. Juridica y de Estudios Legis
lativos LEGALIZA el sello y la firma que antecede del C. Lic.
quien era Notario Público
CARLOS HERMOSILLO PEREZ
Número 6 44 del Distrito Federal en la fecha en que
autorizó el presente documento:

México, D.F. a 31 de mayo de 2000

cct



GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL
Dirección General Jurídica
y de Estudios Legislativos
Subdirección Consultiva y de
Contratos

El suscrito LIC. MANUEL MARTIN SOTO GUTIERREZ
perito traductor INGLES-ESPAÑOL, certifica que la
anterior es una traducción fiel y correcta al
idioma Español del documento adjunto.

México, D.F. a 22 de Mayo de 2000.

Manuel M. Soto

LIC. MANUEL MARTIN SOTO GUTIERREZ.





The
Patent
Office

colombia
165/62
INVESTOR IN PEOPLE

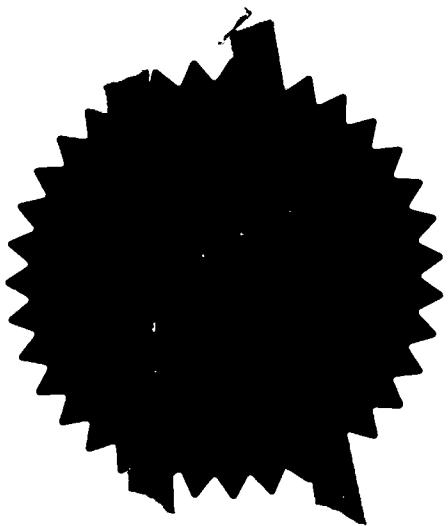
The Patent Office
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

I, the undersigned, being an officer duly authorised in accordance with Section 74(1) and (4) of the Deregulation & Contracting Out Act 1994, to sign and issue certificates on behalf of the Comptroller-General, hereby certify that annexed hereto is a true copy of the documents as originally filed in connection with the patent application identified therein.

In accordance with the Patents (Companies Re-registration) Rules 1982, if a company named in this certificate and any accompanying documents has re-registered under the Companies Act 1980 with the same name as that with which it was registered immediately before re-registration save for the substitution as, or inclusion as, the last part of the name of the words "public limited company" or their equivalents in Welsh, references to the name of the company in this certificate and any accompanying documents shall be treated as references to the name with which it is so re-registered.

In accordance with the rules, the words "public limited company" may be replaced by p.l.c., plc, P.L.C. or PLC.

Re-registration under the Companies Act does not constitute a new legal entity but merely subjects the company to certain additional company law rules.



Signed *Ansower*

Dated 17 April 2000

Patents Act 1977
(Rule 16)

**The
Patent
Office**

1/77

Request for grant of a patent

(See the notes on the back of this form. You can also get an explanatory leaflet from the Patent Office to help you fill in this form)

05 APR 2000

-5 APR 2000

The Patent Office

Cardiff Road
Newport
Gwent NP9 1RH

1. Your Reference	MA/PG3974		
2. Patent application number (The Patent office will fill in this part)	0008179.4		
3. Full name, address and postcode of the or of each applicant (underline all surnames)	GLAXO GROUP LIMITED GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY AVENUE GREENFORD MIDDLESEX UB6 0NN GB		
Patents ADP number (if you know it)	473587003		
If the applicant is a corporate body, give the country/state of its corporation	GB		
4. Title of the invention	CHEMICAL PROCESS		
5. Name of your agent (if you know one)	MICHAEL ATKINSON (SEE CONTINUATION SHEET)		
"Address for service" in the United Kingdom to which all correspondence should be sent (including the postcode)	GLAXO WELLCOME PLC GLAXO WELLCOME HOUSE, BERKELEY AVENUE GREENFORD, MIDDLESEX UB6 0NN, GB		
Patents ADP number (if you know it)	6990527001		
6. If you are declaring priority from one or more earlier patent applications, give the country and date of filing of the or of each of these earlier applications and (if you know it) the or each application number	Country	Priority application number (if you know it)	Date of Filing (day / month / year)
7. If this application is divided or otherwise derived from an earlier UK application, give the number and the filing date of the earlier application	Number of earlier application		Date of filing (day / month / year)
8. Is a statement of inventorship and of right to grant a patent required in support of this request? (Answer yes if: a) any applicant named in part 3 is not an inventor, or b) there is an inventor who is not named as an applicant, or c) any named applicant is a corporate body.	YES		
9. Enter the number of sheets for any of the following items you are filing with this form.			

Patents Form 1/77

Do not count copies of the same document

Continuation sheets of this form	1
Description	6
Claim(s)	2
Abstract	-
Drawing(s)	-

10. If you are also filing any of the following,
state how many against each item

Priority Documents

Translations of priority documents

Statement of inventorship and right
to grant of a patent (*Patents Form 7/77*)

Request for preliminary examination
and search (*Patent Form 9/77*)

Request for substantive examination
(*Patent Form 10/77*)

Any other documents
(*please specify*)

11. I/We request the grant of a patent on the basis of this application

Signature Michael Aktinson Date 4 APRIL 2000
AGENT FOR THE APPLICANTS

12. Name and daytime telephone number of
person to contact in the United Kingdom

Kim Allen
020-8966 5721

Warning

After an application for a patent has been filed, the Comptroller of the Patent Office will consider whether publication of communication of the invention should be prohibited or restricted under Section 22 of the Patents Act 1977. You will be informed if it is necessary to prohibit or restrict your invention in this way. Furthermore, if you live in the United Kingdom, Section 23 of the Patent Act 1977 stops you from applying for a patent abroad without first getting written permission from the Patent Office unless an application has been filed at least 6 weeks beforehand in the United Kingdom for a patent for the same invention and either no direction prohibiting publication or communication has been given, or any such direction has been received

a) Notes

If you need help to fill in this form or you have any questions, please contact the Patent Office on 0645 500505.

b) Write your answers in capital letters using black ink or you may type them.

c) If there is not enough space for all the relevant details on any part of this form, please continue on a separate sheet of paper and write "see continuation sheet" in the relevant part(s). Any continuation sheet should be attached to this form

If you have answered "Yes" Patents Form 7/77 will need to be filed.

d) Once you have filled in the form you must remember to sign and date it.

e) For details of the fee and ways to pay please contact the Patent Office.

165
~~108~~

Additional Agents

(See Page 1 No. 5)

NAME(S)

Alan HESKETH
Michael ATKINSON
Karen CRAWLEY
Peter I. DOLTON
Hugh B. DAWSON
Wendy Anne FILLER
Christiane Elizabeth FISHER
Ruth Elizabeth HACKETT
Audrey HAMMETT
Siân Catherine HOCKLEY
Graham M.H. LANE
Stephanie Anne LEAROYD
Helen Kaye QUILLIN
Michael A REED
Marion REES
Michael John STOTT
Andrew J. TEUTEN
Rachel M. THORNLEY
Janis Florence VOLCKMAN

ADDRESS

Glaxo Wellcome plc
Glaxo Wellcome House
Berkeley Avenue
Greenford
Middlesex
UB6 ONN
Great Britain

CHEMICAL PROCESS

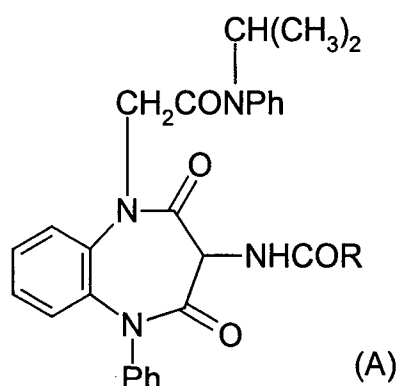
The present invention relates to an improved process for preparing an intermediate for use in the synthesis of Cholecystokinin (CCK) agonists.

5

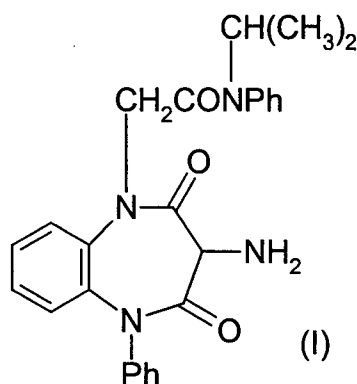
WO94/24149 describes a class of 1,5-benzodiazepine derivatives having an agonist action at the CCK-A receptor.

10

A particular interesting group of 1,5-benzodiazepine derivatives described therein may be represented by the general formula (A)



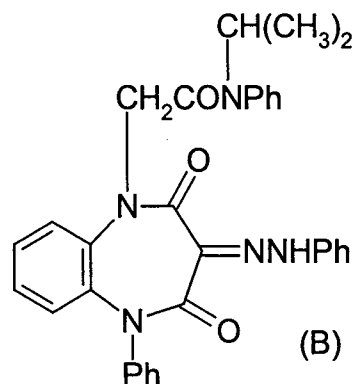
The compounds of formula A are conveniently prepared from the 3-amino derivative (I).



15

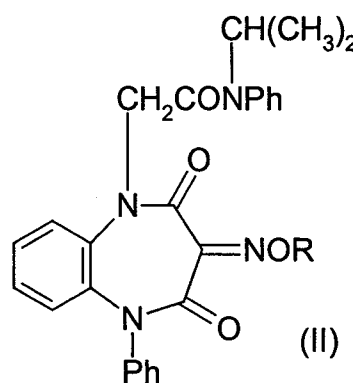
WO94/24149 teaches that such 3-amino-1,5- benzodiazepine derivatives may be prepared by reduction of the corresponding phenylhydrazone and the preparation of the compound of formula (I) by the reduction of the corresponding phenylhydrazone (B), is specifically described in intermediate (II) therein

2



Reduction of the hydrazone (B) to give the amine (I) also results in the formation of aniline. This is a highly toxic product, the generation of which should be avoided if at all possible in a commercial process and thus there is a need to find an alternative synthesis to the primary amine (I) which avoids the generation of aniline and provides the required product in good yield.

We have now found that the required amine (I) can be prepared in high yield and without the generation of toxic side products by concomitant reduction and hydrogenolysis of the corresponding oxime (II), wherein R is an optionally substituted benzyl group.



Thus the present invention provides for a process for preparing the amine (I) by concomitant reduction and hydrogenolysis of the oxime (II) followed, if desired, by isolation of the compound as an acid addition salt thereof.

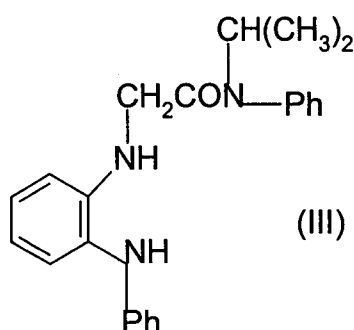
The concomitant reduction and hydrogenolysis is conveniently carried out using a Palladium catalyst e.g. Palladium on charcoal catalyst in the presence of hydrogen or ammonium formate in a solvent such as an alkanol e.g. ethanol, isopropanol or an aqueous ethanol, e.g. aqueous ethanol, or tetrahydrofuran

5

For the reaction the group R is conveniently benzyl or a substituted benzyl group e.g. p-methoxybenzyl or benzhydryl.

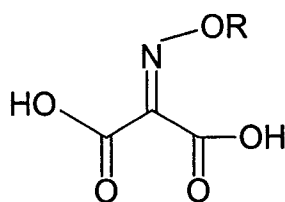
10

The oxime (II) may conveniently be prepared by reaction of the ortho-phenylene diamine derivative (III)



(III)

with an activated derivative of the di-acid (IV), wherein R is an optionally substituted benzyl group.



(IV)

15

Conveniently, the activated derivative of the di acid (IV) is the corresponding diacylhalide e.g. chloride and this is prepared in situ by reaction of the di-acid (IV) with an oxalyl halide e.g. oxalyl chloride. The reaction is conveniently carried out in an aprotic solvent such as an ester e.g. ethyl acetate, dichloromethane, toluene, or dimethoxyether or mixtures thereof, and in the presence of dimethylformamide.

20

The di acid (IV) is conveniently prepared by reaction of a dialkyl ketomalonate e.g. diethyl ketomalonate with the corresponding hydroxylamine derivative RONH_2 in a solvent such as an alkanol or industrial methylated spirits and in the presence of a base e.g. pyridine, followed by reaction with aqueous sodium hydroxide.

The following examples, which are non-limiting, illustrate the invention.

In the Examples the abbreviations EtOAc = ethyl acetate; MeOH = methanol, DMF = N, N-dimethylformamide; IPA = isopropyl alcohol; IMS = industrial methylated spirits.

Intermediate 1

Diethyl 2-[(benzyloxy)imino]malonate

Di-ethylketomalonate (60g) was added at 20°C to a stirred suspension of O-benzylhydroxylamine (57.8g) in IMS (500ml) containing pyridine (30ml). The reaction was heated at 75°C for 4hr. The reaction was cooled and solvents removed under reduced pressure. The residue was partitioned between EtOAc (500ml) and water (300ml) and the organic layer separated, washed with water (250ml) and dried over MgSO_4 . Solvents were evaporated to give the title compound 95.3g, as a colourless oil (99%th, ca 3%w/w residual EtOAc) which was used without further purification.

^1H NMR (300MHz, CDCl_3) 7.4 (m, 5H), 5.35 (s, 2H), 4.35 (m, 4H), 1.3 (m, 6H).

Intermediate 2

2-[(benzyloxy)imino]malonic acid

To a solution of Intermediate 1 (40g) in MeOH (80ml) was added 2M NaOH (200ml) over 20 mins. The reaction was stirred at room temperature for 2hr. MeOH was removed under reduced pressure and the residual solution was acidified to pH 2 by dropwise addition of conc.HCl (~30ml) while cooling to

maintain the temperature below 35°C. A thick white slurry was formed which was diluted with water (50ml) to aid mobility. The solids were collected by filtration, washed with chilled water (25ml) and dried in vacuo at 55°C to give the title compound as a white solid (17g) found to contain ca.10%w/w residual inorganic salts. Corrected yield ~ 45%th. Used without further purification.

¹H NMR (300MHz, D₂O) 7.4 (m, 5H), 5.2 (s, 2H)

Intermediate 3

2-[-3-[(Benzyloxy)imino]-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5-benzodiazepinyl)-N-isopropyl-N-phenylacetamide

Oxalyl chloride (38.3g) was added dropwise (~1hr) to a stirred suspension of Intermediate 2 (40g, corrected for salt content to 31.4g) in EtOAc (200ml) containing DMF (0.5ml, 5 mol%). The mixture was stirred at 25°C for 0.5 hour then filtered through a pad of Dicalite, washing with EtOAc (40ml) to give a clear yellow solution. The solution was added (~5mins) to a stirred slurry of N-isopropyl-N-phenyl-2-(2-phenylaminophenylamino)-acetamide (50g) in EtOAc (120ml) at 25°C. The mixture was warmed to 60°C and a dark purple solution formed. After 1hr, EtOAc (200ml) was removed by atmospheric distillation. IPA (120ml) and water (40ml) were added and the mixture distilled further to remove more solvent (80ml). IPA (40ml) and water (40ml) were added and a further amount of solvent was distilled out (80ml). The reaction mixture was cooled to 25 °C over 1.5hr and the solids collected by filtration. The solids were washed with IPA (2 x 120 ml), water (1 x 120ml) and finally IPA again (1 x 40ml) then dried in vacuo at 55°C to give the title compound as a salmon pink powder (56.6g).

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) 2:1 mixture of isomers about the oxime 7.6-6.95 (m, 18H), 6.9 (t 1H), 5.3 (m, 2H), 4.95 (m, H), 4.65 (d, 0.33H), 4.4 (d, 0.67H), 4.1 (d, 0.67H), 4.0 (d, 0.33H), 0.95 (m, 6H)

17/7/1

Example 1**5 (±)-2-(3-Amino-2,4-dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydrobenzo-
[b][1,4]diazepen-1-yl)-N-isopropyl-N-phenylacetamide**

To a stirred suspension of Intermediate 3 (3g) and ammonium formate (2.08g) in IMS (30ml) and water (3ml) was added 5% Pd/C (50% w/w water) (0.25g). The mixture was heated under a nitrogen atmosphere at 60°C overnight. The hot
10 reaction mixture was filtered through Dicalite to remove the catalyst. The catalyst was washed with hot IMS (60ml) and filtered. The filtrates were concentrated under reduced pressure to give the title compound as a white solid (2.34g).

15

20

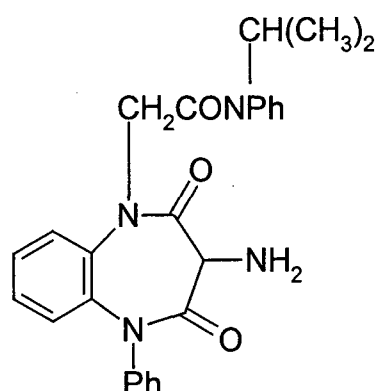
25

30

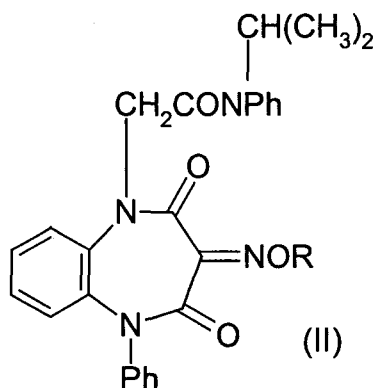
Claims

5

1. A process for the preparation of the compound of formula (I)



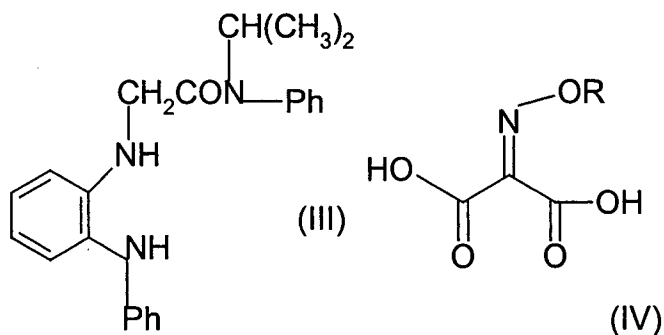
or an acid addition salt thereof which comprises reacting a compound of formula (II)



10 wherein R is an optionally substituted benzyl group under reductive hydrogenolysis conditions, followed, if required, by isolation of the compound as an acid addition salt thereof.

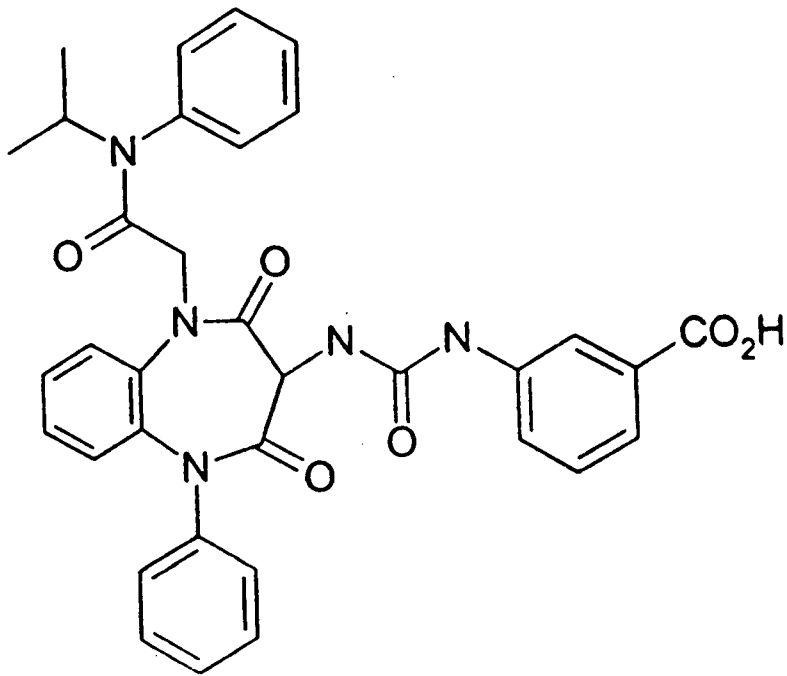
2. A process as claimed in claim 1 wherein the reductive hydrogenolysis is carried out using a palladium catalyst.

3. A process as claimed in claim 1 or claim 2 wherein the compound of formula (II) has been prepared by reaction of the ortho phenylene diamine derivative (III) with an activated derivative of the di-acid (IV),

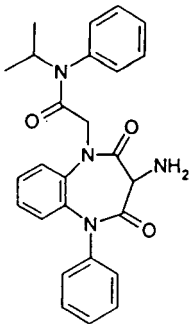


wherein R is an optionally substituted benzyl group.

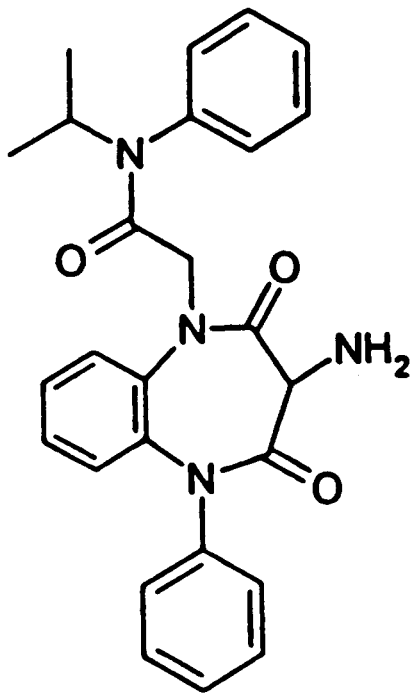
4. A process as claimed in claim 3 wherein the activated derivative of the di-acid (IV) is the di-acylchloride.
- 10 5. A process as claimed in any of claims 1 to 4 wherein R is benzyl.



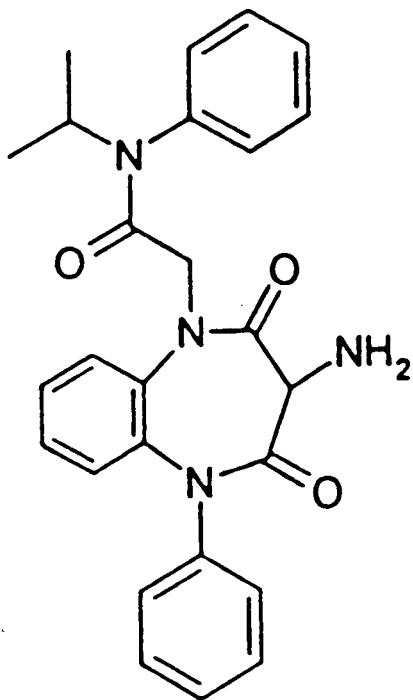
(I)



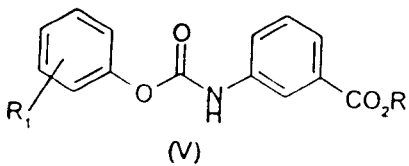
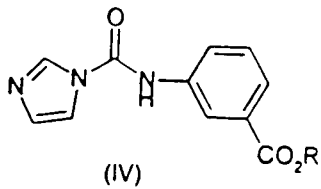
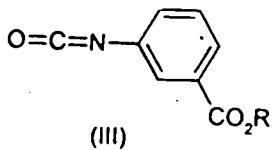
(II)

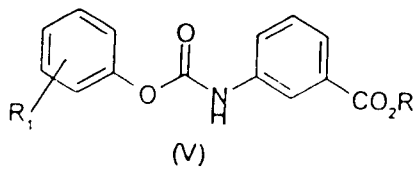
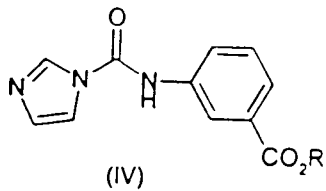
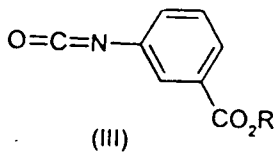


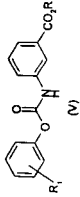
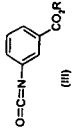
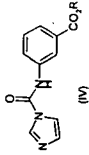
(II)



(II)







JCSE LLOREDA CAMACHO & CO.

ABOGADOS

CALLE 72 No. 5-83 - 6o. PISO

APARTADO AEREO 12304

TELEFAX: 212 6426 - 235 88 46 - 346 1279 - 345 8042

BOGOTA - COLOMBIA S.A.

GLAXO GROUP LIMITED

SOLICITUD DE PATENTE

EXPEDIENTE No. 00-031.982

ARTE FINAL

FORMATO DE DIGITALIZACION RELACION DE ANEXOS

174

Expediente No		00031982	No de Folio
Item		No de unidades	✓
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA	2	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS:		

Observaciones:

Dist Final

2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 180

Radicación no 00-31982

Concepto Técnico no 500

Clasificación Internacional de Patentes A61K 31/55

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene un resumen de la invención (Art.26-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción de la invención (Art.26-b).
- SI ☒ NO ☐ NO ES APLICABLE ☐ Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d)
- SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen. (Art. 26- h).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Los productos y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes.(Art.26-i).
- SI ☐ NO ☒ La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-J).
- SI ☒ NO ☐ La prioridad coincide con la materia reivindicada.
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☒ NO ☐ ver hoja(s) anexa(s) * Nuevo título de la invención folio 73 * presenta nueva página 1 de la descripción que reemplaza la originalmente presentada folio 77 * Se anexan nuevas Tarjetas: de propietario folio 178, y de archivo temático folio 179; Nuevo extracto para publicación folio 76; Ark final (12x12) y (6x6cm).

EXAMINADOR TÉCNICO

202039

Bogotá D. C., 19 Marzo / 2002.



176

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Folio 181

2020
Bogotá, D.C.

Doctor(a)
JOSE ANTONIO LLOREDA
Apoderado(a)

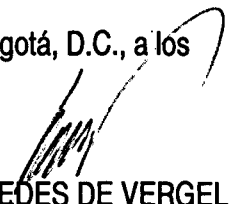
REFERENCIA:	Radicación No.	00-31982
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	680
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la comunidad andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Cúmplase

Dado en Bogotá, D.C., a los

15 MAR. 2002


ALIX CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Bogotá, D.C., 28-03-2005 El extracto de esta solicitud fue publicado en el número 517 de la Gaceta de Propiedad Industrial, de fecha 27-06-2002. El término hábil señalado por la ley expiró el 24-09-2002 y SI ☐ NO ☐ se presentaron oposiciones por parte de terceros.

202039

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia