

00 76949

**ITUD DE
NTE DE
ENCION**

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00076949 00000000 Folios: 102
Fecha (AMD): 2000-10-10 16:05:23
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social F. HOFFMANN-LA ROCHE AG, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Suiza.

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica) JOSE ANTONIO LLOREDA

País de Domicilio Suiza

Departamento o Estado

Dirección 124 Grenzacherstrasse CH-4070 Basilea.

Ciudad Basle Teléfono 61 688 11 11

(74) DATOS DEL Representante Legal

Nombre JOSE ANTONIO LLOREDA

Dirección y Domicilio Calle 72 No. 5-83 Piso 5 Santafé de Bogotá, Colombia

Ciudad Santafé de Bogotá Teléfono 326 42 70

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor(es) Nader Fotouhi; Norman Kong; Emily Aijun Liu; Allen John Lovey y John Guilfoyle Mullin.

Identificación 1 Daniel Street, Chatham, New Jersey 07924; 12 Klimback

Dirección Court, West Caldwell, New Jersey 07006; 191 Alexander Avenue, Nutley, New Jersey 07110; 21 Hickory Drive, North Caldwell, New Jersey 07006 y 519 Goffle Hill Road, Hawthorne, New Jersey 07512.

Ciudad Teléfono 61 688 11 11

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención "PIRROLES SUSTITUIDOS".

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD ANDINA ☐ UNIONISTA ☒

(33) País US (32) Fecha 12-10-99 (31) No. Solicitud 60/158,860

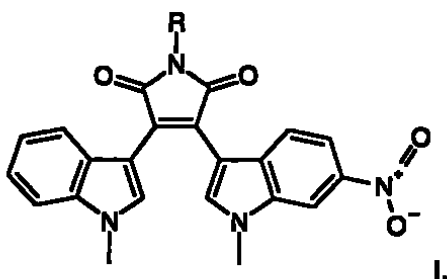
Para Publicar a los ☒ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente Solicitud

12 ABR. 2001

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Se describen nuevos pirroles sustituidos, que tienen la fórmula:



Estos compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables son adecuadas para la administración a pacientes como solución para infusión continua y son de utilidad para el tratamiento y/o control de trastornos proliferativos celulares, en particular, del cáncer. También se describen composiciones farmacéuticas que contiene los compuestos anteriores y su empleo para el tratamiento y/o control del cáncer.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica ☐

El Documento de Representación ☒

Legal debidamente otorgado, o mención de su protocolización ante la S.I.C. 15.256 ☒

Recibo de la tasa respectiva \$608.000,00 ☒

Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación ☐

Si se reivindica prioridad Andina:

Copia de la primera solicitud ☐

Traducción oficial ☐

Si se reivindica prioridad Unionista:

Copia certificada de la primera solicitud: ☐

Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior

Traducción Simple ☐

Capítulo descriptivo ☒

Dibujos, planos necesarios ☐

Capítulo reivindicatorio ☒

Tarjeta archivo propietarios según formato ☒

Tarjeta archivo temático según formato ☒

Extracto para publicación según formato ☒

Arte final 12 x 12 cms. Y 6x6 cms ☐

Otros Documentos: Traspasos ☒

Nota: Anexo información sobre la fuente normativa de reciprocidad y petición Reconocimiento Personería ☒

SOLICITO LA CONCESIÓN DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE

JOSE ANTONIO LLOREDA

C.C. 17.159.681 de Bogotá TP No. 10.784



2.

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 00076349 00000000

Folios: 102

Fecha (AMD): 2000-10-10 16:05:23

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRADO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 990176009-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10,923

FECHA : SEPTIEMBRE 28 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

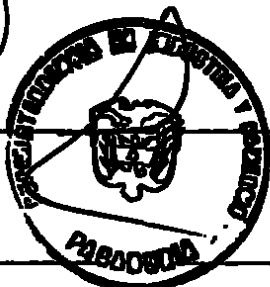
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	Nº. PAGO	Vr. PAGO
CPA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00210-1	2022104	1,420,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01 01 SOLICITUDES	TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	100,000.00
	TOTAL :	100,000.00

CON: SEISCIENTOS CERO MIL PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10

Conmutador: 334 12 21

Fax: 281 31 25

e-mail: info@sic.gov.co

Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

ANEXO

Atentamente manifiesto a usted que la fuente normativa de la reciprocidad de la cual se deriva el derecho del solicitante para reivindicar prioridad en el presente caso, se encuentra:

- a) En el Artículo 2 del Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la "Organización Mundial de Comercio (OMC)" suscrito en Marruecos el 15 de abril de 1994. Este acuerdo fue aprobado por el Congreso de Colombia mediante Ley 170 de 1994 y por la Corte Constitucional Colombiana mediante Sentencia C-137-95 de 28 de marzo de 1995, y entró en vigencia en nuestro país el 30 de abril de 1995, 30 días después de su ratificación.

Dicho Artículo establece que en lo que respecta a las partes II, III y IV del Acuerdo (referidas a la existencia, alcance y ejercicio de los derechos de propiedad intelectual, entre otros) los Miembros cumplirán los artículos 1 a 12 y el Artículo 19 del Convenio de París —el Artículo que establece la prioridad de las patentes de invención es el Artículo 4—

- b) En el Artículo 4 del mencionado Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la Organización Mundial de Comercio (OMC), el cual consagra el "Trato de la nación más favorecida" para los países Miembros del mismo.
- c) En el Artículo 4 del Convenio de París, del cual ya era parte Colombia en el momento en que se presentó la solicitud cuyas prioridades ahora reivindico, con lo cual se cumple la reciprocidad exigida en el Artículo 12 de la Decisión 344 del Acuerdo de Cartagena para con solicitudes provenientes de los Países Miembros del Acuerdo de Cartagena.

ANEXO

El documento que acredita la calidad REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores JOSE LLOREDA CAMACHO y/o ALFONSO LLOREDA CAMACHO y/o JOSE ANTONIO LLOREDA para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se encuentra protocolizado ante esa División bajo el No. 15.256 . En Consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.



JOSE ANTONIO LLOREDA

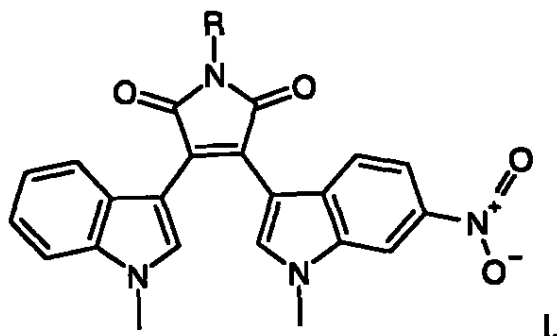
T.P. No. 10 784

CODIGO 231

5

RESUMEN OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Se describen nuevos pirroles substituidos, que tienen la fórmula:



10

Estos compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables son adecuadas para la administración a pacientes como solución para infusión continua y son de utilidad para el tratamiento y/o control de trastornos proliferativos celulares, en particular, del cáncer. También se describen composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos anteriores y su empleo para el tratamiento y/o control del cáncer.

20

Breve resumen de la invención

La presente invención se refiere a ciertos pirroles substituidos, los cuales son agentes antiproliferativos. Estos compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables son de utilidad en el tratamiento o control de trastornos proliferativos celulares, en particular del cáncer. La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos y su empleo para el tratamiento y/o prevención del cáncer, en particular para el tratamiento o control de tumores sólidos.

Antecedentes de la invención

La proliferación celular incontrolada es el sello identificativo del cáncer. Las células tumorales cancerosas producen típicamente alguna forma de daño en los genes que directamente o indirectamente regulan el ciclo de división de la célula. Se ha consumido una gran cantidad de investigación en el estudio de los agentes antiproliferativos. A la vez que se han identificado muchos agentes con actividades antiproliferativas, se ha encontrado que muchos de estos agentes presentan varios inconvenientes, incluyendo una pobre solubilidad, gran complejidad molecular, etc., que pueden convertirlos bien en inadecuados o en no convenientes para el empleo terapéutico en pacientes humanos. En este campo continúa existiendo por lo tanto una necesidad de compuestos con una molécula sencilla que puedan sintetizarse fácilmente, que sean efectivas como agentes terapéuticos del cáncer y sean adecuadas para su administración por infusión continua a los pacientes. Es por lo tanto un objeto

de esta invención proporcionar dichos compuestos así como también ciertas composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

Definiciones

5 Como se utilizan aquí, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

 "Alquilo" significa una cadena lineal o ramificada de un hidrocarburo alifático saturado que tiene de 1 a 15, de preferencia de 1 a 10, átomos de carbono. Los grupos alquilo
10 lo pueden estar substituidos como se describe más adelante. Además, la cadena alquílica puede incluir uno o más heteroátomos en lugar de uno o más átomos de carbono. Se prefieren los grupos "alquilo inferior" que tienen de 1 a 6, de preferencia 1 a 4, átomos de carbono. Grupos alquilo inferior
15 típicos incluyen el metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, t-butilo, 2-butilo, pentilo, hexilo y similares.

 "Alquenilo" significa un hidrocarburo alifático no saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 15 átomos de carbono, de preferencia de 1 a 10 átomos de carbono, con mayor preferencia de 1 a 6 átomos de carbono.
20

 "Alcoxilo" significa un grupo alquilo que está unido al resto de una molécula mediante oxígeno (p. ej. RO-, tal como metoxilo, etoxilo, etc.).

 "Arilo" significa un anillo aromático que tiene de 5 a
25 10 átomos el cual consta de 1 ó 2 anillos, el cual puede incluir opcionalmente uno o más heteroátomos que son iguales o diferentes. Para la finalidad de esta definición, arilo incluye heteroarilo. Los heteroátomos preferidos in-

cluyen el nitrógeno, azufre o oxígeno, individualmente o en alguna combinación, en lugar de uno o más carbonos. Ejemplos de grupos arilo dentro de esta definición son fenilo, piridina, imidazol, pirrol, triazol, furano, pirimidina.

5 "Cicloalquilo" significa un grupo hidrocarburo alifático cíclico, no aromático, parcial o completamente saturado, que tiene de 3 a 8 átomos. Ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen el ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

10 "Cantidad efectiva" significa una cantidad de por lo menos un compuesto de fórmula I ó una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que inhibe de forma significativa la proliferación y/o previene la diferenciación de una célula de un tumor humano, incluyendo las líneas celulares de tu-
15 mores humanos.

"Heteroátomo" significa un átomo seleccionado entre nitrógeno, azufre y oxígeno. Los heteroátomos se seleccionan independientemente entre sí, y pueden reemplazar uno o más átomos de carbono.

20 "Heterociclo" significa un grupo hidrocarburo parcial o completamente saturado, no aromático, de 3 a 10 miembros, que contiene por lo menos un heteroátomo. Este sistema anular incluye la morfolina, pirrolidina, piperidina, piperazina.

25 "IC₅₀" se refiere a la concentración de un compuesto particular de acuerdo con la invención, necesaria para inhibir el 50% de una actividad específicamente medida. El

IC₅₀ puede ser medido, entre otras maneras, como se describe en el ejemplo 26, más adelante.

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición ácida o sales de adición básica convencionales, que conservan la efectividad biológica y propiedades de los compuestos de fórmula I y están formadas de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos, adecuados, ó bases orgánicas o inorgánicas. Ejemplos de sales de adición ácida incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos tales como el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y ácido nítrico, y los derivados de ácidos orgánicos tales como el ácido acético, ácido tartárico, ácido salicílico, ácido metanosulfónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fumárico y similares. Ejemplos de sales de adición básica incluyen los derivados de hidróxidos de amonio, potasio, sodio y amonio cuaternario tales como por ejemplo, el hidróxido de tetrametilamonio.

"Farmacéuticamente aceptable" tal como una carga, un excipiente, etc. farmacéuticamente aceptable, significa farmacológicamente aceptable y substancialmente no tóxico para el sujeto al cual se administra el compuesto particular.

"Metabolito farmacéuticamente activo" significa un producto metabólico de un compuesto de fórmula I el cual es farmacéuticamente aceptable y efectivo.

"Conversión en plasma" referido a los compuestos de fórmula I significa la degradación (enzimática y/o no enzi-

mática) de dicho compuesto en el plasma humano o plasma de roedor a 37°C; desde los 30 minutos hasta las 6 horas, para dar la 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona, un metabolito farmacéuticamente activo
5 de compuestos de fórmula I, así como también metabolitos farmacéuticamente activos del mismo. Esta conversión viene dada típicamente como el tanto por ciento de degradación durante un periodo de tiempo especificado.

"Grupos de polietilenglicol" o "PEG" representan estructuras de fórmula general $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{R}^8$, en donde n es
10 como media, entre 2 y 1500, de preferencia 15 a 150; con un peso molecular medio de 500 a 5000 daltons, y en donde R^8 es carboxilo o alquilo inferior, de preferencia metilo o etilo. Los grupos PEG pueden hacerse reaccionar con com-
15 puestos de acuerdo con la invención para obtener compuestos peguilados dentro también del ámbito de esta invención.

"Profármaco" se refiere a un compuesto que puede ser convertido en condiciones fisiológicas o mediante solvolisis en un compuesto farmacéuticamente activo. Un profármaco
20 puede ser inactivo cuando se administra a un paciente pero se convierte *in vivo* en un compuesto activo.

"Estabilidad" es un dictamen de conjunto sobre la capacidad de un compuesto de fórmula I para resistir la degradación en una solución típica empleada para la administración de fármacos por vía intravenosa. Específicamente se
25 refiere a la capacidad de cualquier compuesto dado de fórmula I, para la liberación de la 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona, durante un

período de 72 horas en una mezcla de acetonitrilo y solución salina o agua de dextrosa. La "estabilidad" de un compuesto de fórmula I es "muy buena" si se detecta menos del 1% de 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona, "buena" si se detecta menos del 2,5% de 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona, y "débil" si se detecta menos del 5% de 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona, después de 72 horas de incubación a temperatura ambiente.

"Substituido", como p. ej., en alquilo substituido, significa que la substitución puede tener lugar en una o más posiciones y, a no ser que se indique otra cosa, que los substituyentes de cada sitio de substitución están independientemente seleccionados entre opciones especificadas.

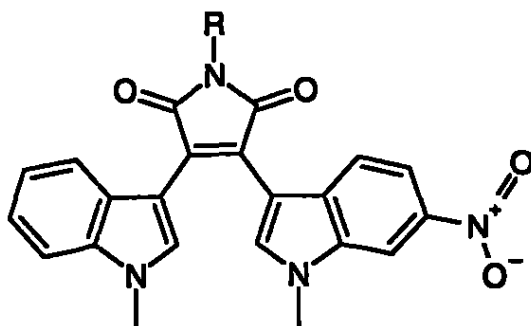
"Amino substituido" significa un grupo amino, el cual está mono o disubstituido con otro grupo, de preferencia alquilo inferior (p. ej. metilo o etilo).

20

Descripción detallada de la invención

Específicamente, la invención se refiere a pirroles substituidos que tienen la fórmula:

25



y sales farmacéuticamente aceptables de compuestos precedentes, en donde

R está seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, $-\text{CH}_2\text{OH}-$, $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$, y

5 $-\text{CONHR}^3$;

R^1 y R^2 se seleccionan del grupo que consiste en H, Na y NH_4 y son los mismos a no ser que o bien R^1 ó R^2 sea H en cuyo caso el otro puede ser diferente, o alternativamente, R^1 y R^2 juntos, representan calcio.

10 R^3 se selecciona del grupo que consiste en"

alquilo, el cual opcionalmente puede estar substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol,

$-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo; alquenilo, el

15 cual puede estar opcionalmente substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo; cicloalquilo que opcionalmente puede estar substituido con uno o más substituyentes seleccionados del

20 grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo;

Heterociclo, el cual cuando incluye N como un heteroátomo, el N puede estar opcionalmente substituido con alquilo inferior, y $-\text{COR}^7$,

25 Arilo, el cual puede estar opcionalmente substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en CO_2R^4 , hidroxilo, alcoxilo, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, y alquilo, el cual asimismo puede estar substi-

tuido con hidroxí alcóxilo, carboxilo y amino sustituido, con la condición de que cuando arilo representa piridina, el nitrógeno puede estar sustituido con alquilo inferior;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, Na y al-
5 quilo inferior;

R⁵ y R⁶ están cada uno seleccionado del grupo que consiste en H, alquilo inferior y -COR⁷, ó alternativamente, junto con el grupo -NR⁵R⁶, forman un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros; y

10 R⁷ es alquilo inferior, el cual puede estar opcionalmente sustituido con carboxilo, polietilenglicol y amino sustituido.

Los compuestos de fórmula I tienen actividad antiproliferativa, específicamente inhiben la división celular en
15 la fase G2/M del ciclo celular y reciben genéricamente el nombre de inhibidores del "ciclo celular en la fase G2/M". Estos compuestos son profármacos solubles estables, de un agente terapéutico anticancerígeno, están descritos en la patente U.S. 5.057.614 y son por lo tanto adecuados para
20 administrar mediante infusión continua.

La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad farmacéuticamente efectiva de uno cualquiera o varios de los compuestos descritos más arriba y una carga o excipiente farmacéuticamente
25 aceptable.

La presente invención se refiere también al empleo de una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula I y/o sus

sales farmacéuticamente aceptables, para el tratamiento de tumores sólidos, en particular tumores de mama o colon.

En una versión preferida de los compuestos de fórmula I, R se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$,
5 $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$, y $-\text{CONHR}^3$, de preferencia $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$, y $-\text{CONHR}^3$, y con mayor preferencia $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ y $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R es $-\text{CH}_2\text{OCO}$ -piridina en donde el átomo de N de la piri-
10 dina se substituye con alquilo inferior, con mayor preferencia metilo o etilo, con lo que se crea un átomo de nitrógeno cuaternario.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre sí del
15 grupo que consiste en H y Na.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^3 es un heterociclo que contiene por lo menos un átomo de nitrógeno que opcionalmente puede estar substituido con $-\text{COR}^7$.

20 En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^3 es arilo el cual está substituido con $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, y R^1 y R^2 están independientemente seleccionados entre H y Na.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^3 es arilo el cual está substituido por el grupo que
25 consiste en $-\text{CO}_2\text{Na}$, polietilenglicol y $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^3 es alquilo inferior el cual está substituido con $-\text{CO}_2\text{Na}$.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, el grupo NR^5R^6 junto, forma un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros, de preferencia piperidina o pirrolidina.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente entre sí, del grupo que consiste en H, metilo y etilo.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R^7 es etilo, el cual está substituido con polietilenglicol.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, el polietilenglicol tiene un peso molecular desde aproximadamente 750 hasta aproximadamente 5000 daltons.

En otra versión preferida de los compuestos de fórmula I, R es $-CH_2OCOR^3$, en donde R^3 es etilo el cual está substituido con PEG de un peso molecular desde aproximadamente 750 hasta aproximadamente 5000 daltons.

Los siguientes compuestos son ejemplos de compuestos preferidos de fórmula I:

sal mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil]sodio del ácido fosfórico,

O-[2-[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxicarbonilo]etil]-O'-metilpolietilenglicol 2000,

Sal de sodio del éster mono-(4-[[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino]-butílico) del ácido fosfórico,

Trifluoroacetato de 1-metil-3-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetoxicarbonil]-piridinio,

1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona; y

O-[2-[[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-1H-pirrol-1-il]metoxi]carbonil]metil]-O'-metilpolietilenglicol 2000.

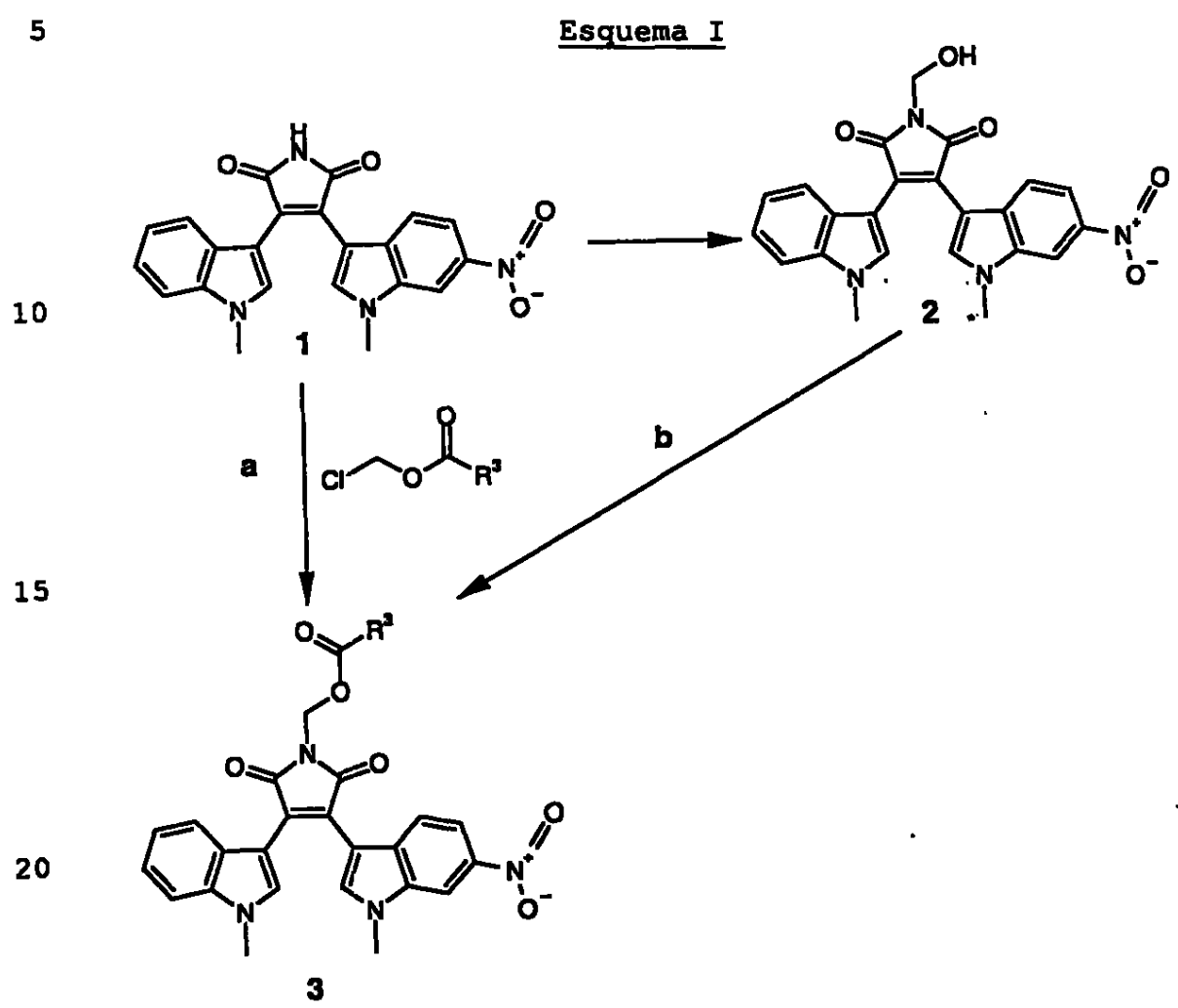
Los compuestos descritos aquí y comprendidos por las fórmulas de más arriba, pueden presentar tautomerismo o isomerismo estructural. Se pretende que la invención abarque cualquier forma isomérica tautomérica o estructural de estos compuestos o mezclas de dichas formas, y no está limitada a cualquier forma isomérica tautomérica o estructural, utilizada dentro de las fórmulas mencionadas más arriba.

Síntesis de compuestos de acuerdo con la invención

Los compuestos de la invención pueden prepararse mediante procedimientos ya conocidos en la especialidad. En los ejemplos, se describen procedimientos adecuados para sintetizar estos compuestos. Generalmente, estos compuestos pueden prepararse de acuerdo con los siguientes esquemas de síntesis.

Los compuestos de fórmula I en los cuales R significa CH_2OCOR^3 y en los cuales R^3 es como se ha descrito más arriba, pueden prepararse como se indica en el esquema I a continuación, con la condición de que si R^3 contiene un hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, monoalquilamino

o carboxilo, este grupo se protege primero con un grupo protector convencional ya conocido por los expertos en la especialidad. El esquema I también es de utilidad para preparar compuestos de fórmula I en donde R es -CH₂OH.



Como se ha indicado en el esquema Ia, un éster de clorometilo preparado por reacción de un ácido carboxílico ya conocido o un ácido carboxílico preparado por métodos ya conocidos, con $\text{ClCH}_2\text{OSO}_2\text{Cl}$ en cloruro de metileno y agua, en presencia de una base tal como el carbonato de sodio y un catalizador de transferencia de fase tal como el sulfato

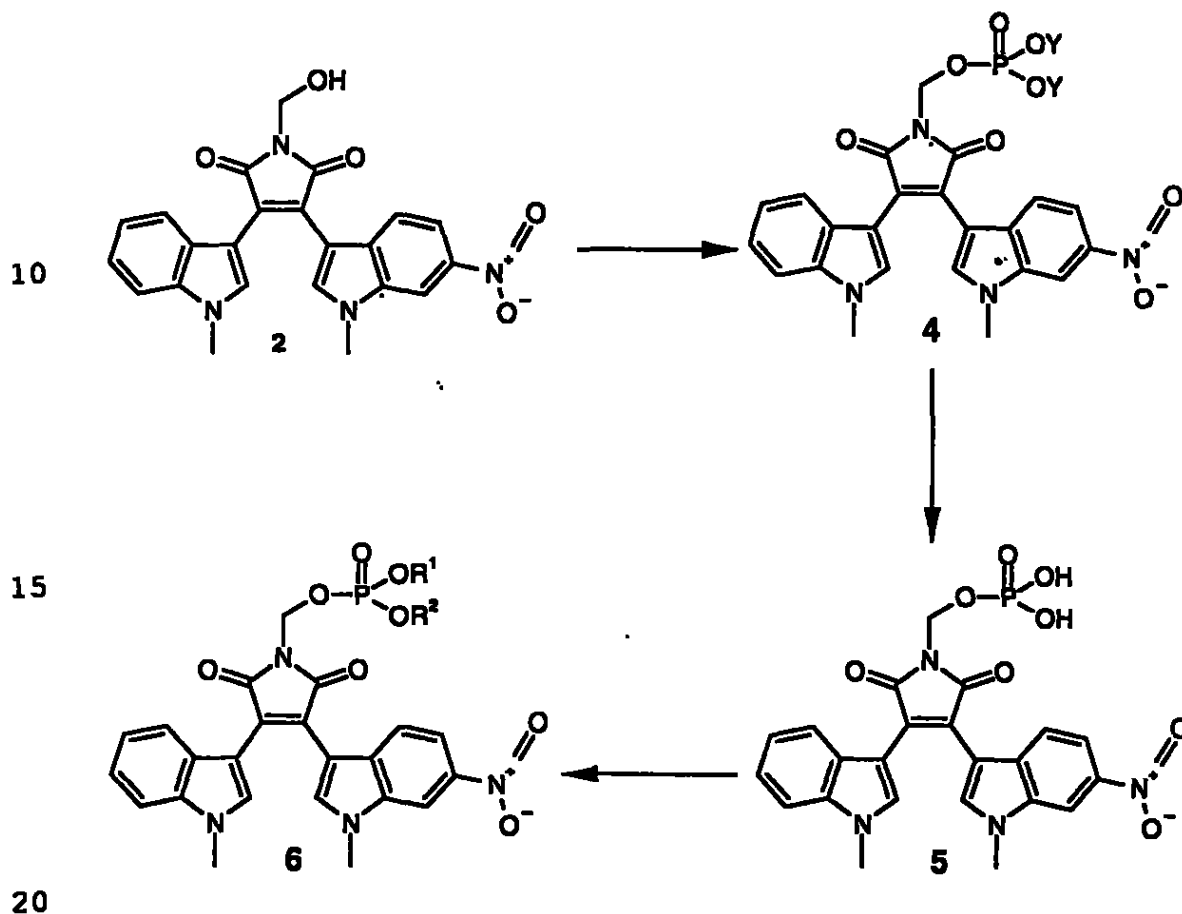
ácido de tetrabutylamonio, se hace reaccionar con 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona [preparado como está descrito en los ejemplos de la patente EP 0 328 8026].

5 Alternativamente, se trata el 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona [preparado como está descrito en los ejemplos de Davis, patente US 5.057.614], con formaldehído obteniéndose el producto intermedio hidroximetilo 2. A continuación, se esterifica este producto intermedio empleando procedimientos ya conocidos. Típicamente, el producto intermedio hidroxilo 2, se trata con un ácido carboxílico ya conocido o un ácido carboxílico preparado por métodos ya conocidos, en un disolvente tal como el cloruro de metileno en presencia de EDC y
10 dimetilaminopiridina durante varias horas a temperatura ambiente. Alternativamente, el producto intermedio hidroxilo 2 puede tratarse con un cloruro de ácido ya conocido o un cloruro de ácido preparado por métodos ya conocidos.

Para preparar los compuestos de estructura 3 en donde
20 R³ contiene un anillo heteroaromático, el heteroátomo tal como el N, puede ser más tarde modificado mediante la reacción con un yoduro de alquilo tal como el CH₃I en un disolvente tal como el acetonitrilo. Alternativamente, los compuestos de estructura 3 en donde R³ contiene un hidroxilo
25 protegido adecuado, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, monoalquilamino, puede ser posteriormente modificado eliminando primero el grupo protector mediante métodos ya conocidos. El grupo amino o hidroxilo puede a continuación modificarse en la amida o éster deseados, mediante métodos ya
30 conocidos en la especialidad.

Los compuestos de fórmula general I en la cual R significa $\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ y en donde R^1 y R^2 son como se ha definido más arriba, pueden prepararse mediante el siguiente esquema II.

5

Esquema II

20

Típicamente, el producto intermedio hidroximetilo 2 se copula con un fosfato adecuadamente protegido mediante una reacción "mitsunobu" empleando trifenilfosfina y dietilazodicarboxilato para dar un compuesto de estructura 4 en el cual Y representa un grupo protector adecuado. La eliminación de los grupos de protección puede efectuarse mediante uno cualquiera de los métodos estándar para dar el ácido fosfórico 5. En particular, cuando Y representa un grupo

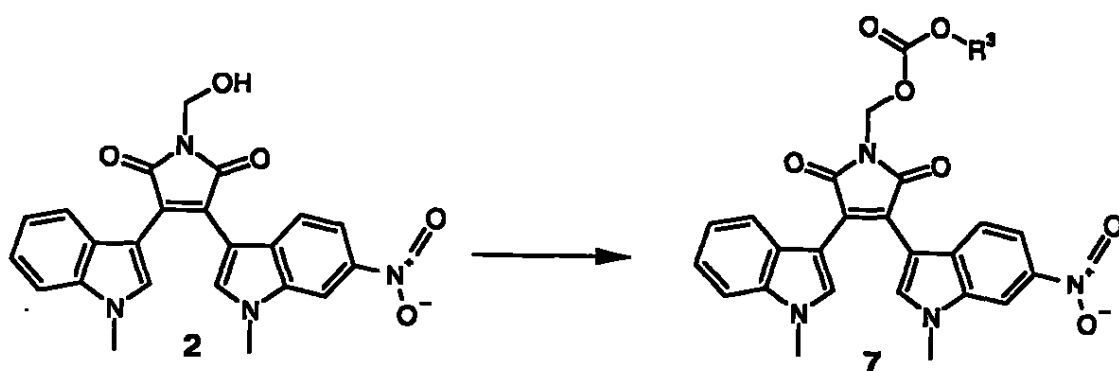
bencilo, los grupos de protección se eliminan empleando ciclohexadieno y paladio sobre carbón como un catalizador. El compuesto 5 puede a continuación ser convertido en su sal, tal como una sal monosódica 6, por métodos estándar.

5 Los compuestos de fórmula I, en la cual R significa $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$, y en la cual R^3 es como se ha descrito más arriba, se prepararon de acuerdo con el esquema III a continuación.

Esquema III

10

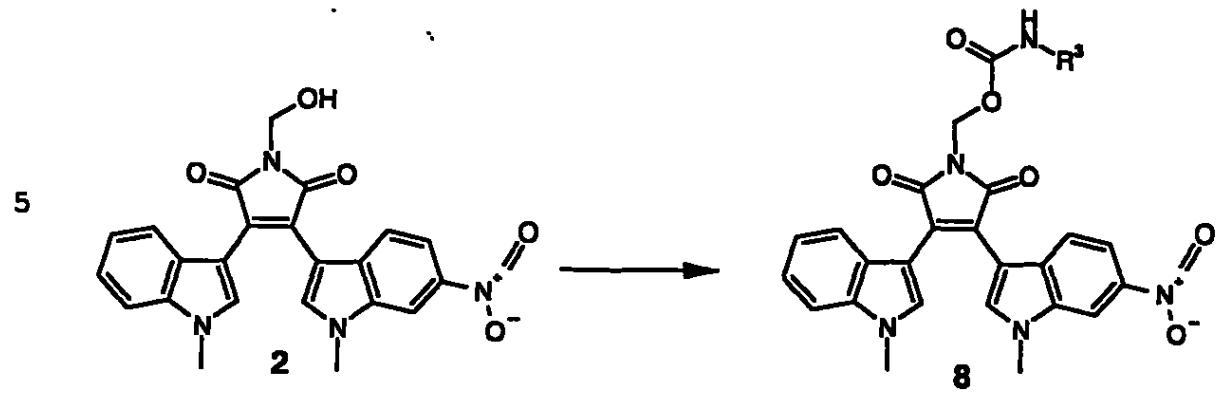
15



Típicamente, el producto intermedio hidroximetilo 2 se trata con un cloroformiato ya conocido o un cloroformiato preparado empleando procedimientos ya conocidos, en un disolvente tal como el THF a temperaturas de 5° a 20°C, en presencia de dimetilaminopiridina y 1,5-diazabicyclo(4.3.0)-non-5-eno para obtener el carbonato deseado.

Los compuestos de fórmula I, en la cual R significa $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$, y en la cual R^3 es como se ha descrito más arriba, se prepararon como se ha descrito en el esquema IV a continuación.

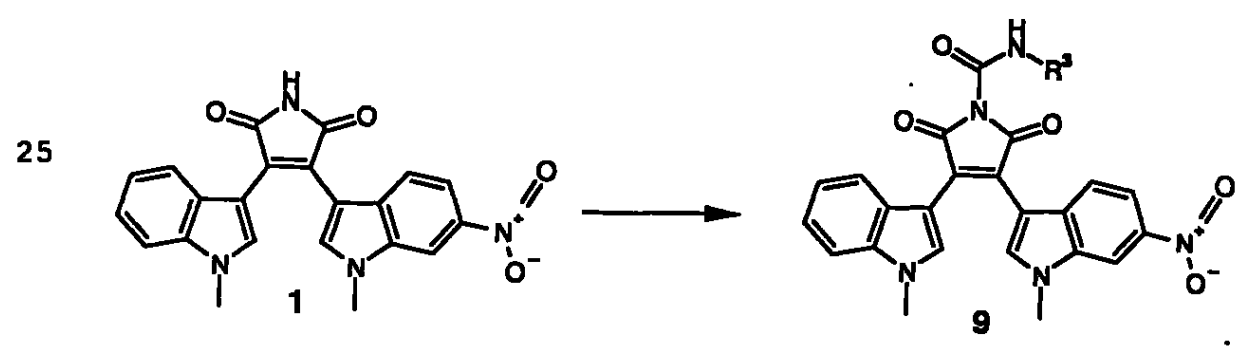
Esquema IV



Típicamente, el producto intermedio hidroximetilo 2 es
10 desprotonizado empleando una base fuerte tal como el n-
butillitio ó la litio bis(trimetilsilil)amida en un disol-
vente tal como el THF a 0°C. El anión generado se trata a
continuación, en el mismo disolvente, con bis(p-nitrofenil)
carbonato, seguido por una amina conocida o una amina pre-
15 parada empleando procedimientos ya conocidos.

Los compuestos de fórmula I, en la cual R significa
-CONHR³, y en la cual R³ es como se ha definido más arriba,
pueden prepararse como se ha indicado en el esquema V, a
condición de que si R³ contiene un hidroxilo, hidroxialqui-
20 lo, amino, aminoalquilo, monoalquilamino o carboxilo, este
grupo se proteja con un grupo protector convencional.

Esquema V



Típicamente, se desprotoniza la 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona [preparada como figura en los ejemplos de la patente EP 0 328 8026] en un disolvente aprótico tal como el THF a 0°C empleando una base fuerte tal como el n-butillitio o la litio bis(trimetilsilil)amida. El anión resultante se trata a continuación con bis(p-nitrofenil)carbonato, seguido de una amina conocida o una amina preparada por métodos ya conocidos en la especialidad.

La conversión de un compuesto de reacción ácida de fórmula I en una sal farmacéuticamente aceptable puede efectuarse por tratamiento con una base adecuada de forma ya conocida. Sales adecuadas son aquellas derivadas no solamente de bases inorgánicas por ejemplo, sales de sodio, potasio o calcio, sino también de bases orgánicas tales como etilendiamina, monoetanolamina o dietanolamina. La conversión de un compuesto básico de fórmula I en una sal farmacéuticamente aceptable puede efectuarse por tratamiento con un ácido conveniente, de manera ya conocida. Sales adecuadas son las descritas en la página 3.

Composiciones/Formulaciones

En una versión alternativa, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto de fórmula I ó una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Estas composiciones farmacéuticas pueden administrarse oralmente, por ejemplo, en forma de comprimidos, comprimidos lacados, grageas, cápsulas de gelatina dura o blanda,

soluciones, emulsiones o suspensiones. Pueden también administrarse rectalmente, por ejemplo en forma de supositorios. En particular, sin embargo, los compuestos de la presente invención son adecuados para la administración parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones para inyección.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención que comprenden los compuestos de fórmula I, profármacos de dichos compuestos, o las sales de los mismos, pueden elaborarse de forma ya conocida en la especialidad, p. ej. por medio de un mezclado convencional, encapsulado, disolución, granulado, emulsionado, oclusión, confección de grageas o procedimientos de liofilización. Estas preparaciones farmacéuticas pueden formularse con cargas inorgánicas u orgánica terapéuticamente inertes. Pueden utilizarse la lactosa, almidón de maíz o derivados del mismo, talco, ácido esteárico o sus sales, como tales cargas para comprimidos, comprimidos lacados, grageas y cápsulas de gelatina dura. Cargas adecuadas para cápsulas de gelatina blanda incluyen aceites vegetales, ceras, y grasas. En función de la naturaleza de la sustancia activa, no son generalmente necesarias cargas en el caso de cápsulas de gelatina blanda. Cargas adecuadas para la elaboración de soluciones y jarabes son el agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido y glucosa. Cargas adecuadas para la inyección son el agua, alcoholes, polioles, glicerina, aceites vegetales, fosfolípidos y surfactantes. Cargas adecuadas para supositorios son los aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas y polioles semilíquidos.

Las preparaciones farmacéuticas pueden también contener agentes conservantes, agentes solubilizantes, agentes estabilizantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes edulcorantes, agentes colorantes, agentes sabori-
zantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, agentes de recubrimiento o antioxidantes. Pueden también contener otras sustancias terapéuticas valiosas, incluyendo ingredientes activos adicionales distintos a los de fórmula I.

10 Dosificaciones

Como se ha mencionado más arriba, los compuestos de la presente invención son de utilidad para el tratamiento o control de los trastornos proliferativos celulares, en particular trastornos oncológicos. Estos compuestos y formula-
ciones que contienen tales compuestos son particularmente
de utilidad para el tratamiento o control de tumores sólidos, tales como por ejemplo tumores de mama y colon.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con esta invención, significa una cantidad de compuesto que es efectiva para prevenir, aliviar o mejorar los síntomas de la enfermedad o prolongar la supervivencia del sujeto que se está tratando. La determinación de la cantidad terapéuticamente efectiva está dentro de la práctica de la especialidad.

25 La cantidad o dosificación terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con esta invención puede variar dentro de amplios límites y deberá ser ajustada a los requerimientos individuales de cada caso particular. En gene-

ral, en el caso de la administración oral o parenteral a humanos adultos con un peso aproximado de 70 kg, una dosificación diaria de aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 10.000 mg, de preferencia desde aproximadamente 200 mg hasta aproximadamente 1.000 mg, debería ser apropiada, aunque el límite superior puede ser excedido cuando está indicado. La dosificación diaria puede administrarse en forma de una dosis única o en dosis divididas o para la administración parenteral puede darse en forma de una infusión continua.

Ejemplos

Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse de acuerdo con las técnicas ya conocidas, tales como por ejemplo, los esquemas generales que figuran más arriba. Los siguientes ejemplos ilustran métodos preferidos para la síntesis de los compuestos y formulaciones de la presente invención.

Ejemplo 1: Sal mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil]sódica del ácido fosfórico.

a) Una suspensión conteniendo 0,5 g (1,25 mmoles) de 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona (ver Davis patente US nº 5.057.614), 4,0 ml de solución de formaldehído (37% p/p) y 2,0 ml de agua, se calentaron a 125°C con agitación y con un condensador de reflujo incorporado durante 14 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se diluyó con agua. El sólido rojo resultante se filtró, se lavó con agua y se secó. El sólido se purifi-

có por cromatografía empleando sílica gel y una mezcla de EtOAc/hexano como eluyente, obteniéndose 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (p.f. = 209-211°C).

- 5 b) A una solución en frío (10°C) de THF conteniendo 0,12 g (0,68 mmoles) de dietilazodicarboxilato, 0,20 g (0,46 mmoles) de 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (a partir del paso a) de más arriba), y 0,40 g (1,43 mmoles) de
- 10 dibencilfosfato, se añadieron gota a gota 5 ml de una solución conteniendo 0,128 g (0,49 mmoles) de trifenilfosfina. La mezcla resultante se agitó durante 14 horas a 20°C. Se evaporó todo el disolvente y el residuo se purificó por
- 15 cromatografía empleando sílica gel y eluyendo con una mezcla de EtOAc/hexanos, obteniéndose el éster dibencílico del ácido fosfórico, éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico, en forma de un bloque sólido de color rojo (p.f. = 105-109°C).
- 20 c) Una solución de 35 mg (0,051 mmoles) del éster dibencílico del ácido fosfórico, éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico (a partir del paso b) de más
- 25 arriba) en THF (5 ml) con 5 ml de etanol y 0,5 g de 1,4-ciclohexadieno, se trató con 35 mg de paladio 10%/carbón. La mezcla se calentó a 45°C en cuyo momento tuvo lugar una ligera exotermia. Después de 10 minutos a 50°C, se filtró la reacción caliente a través de celite y la torta del fil-

tro se lavó con THF. Todo el disolvente se evaporó y el residuo se redisolvió en THF, se filtró a través de celite y se trituro con hexano obteniéndose 14 mg de ácido fosfórico mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetilo].

d) Una solución de 14 mg (0,029 mmoles) de ácido fosfórico mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetilo] (a partir del paso c) de más arriba) en 15 ml de agua, se trató con hidróxido de sodio diluido hasta que el pH de la solución fue de 7,1. Esta solución se filtró y liofilizó obteniéndose la sal mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetilo]sódica del ácido fosfórico.

Ejemplo 2: Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido isonicotínico

A una solución de dimetilaminopiridina (1,5 equivalentes) e hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (1,5 equivalentes) en CH₂Cl₂ se añadió ácido 4-picolínico (1,2 equivalentes) y la mezcla de reacción se agitó unos pocos minutos. Se añadió 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona, preparado como en el ejemplo 1a, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante varias horas. La mezcla se diluyó con diclorometano, se lavó con HCl acuoso, NaHCO₃ saturado, agua, se secó con MgSO₄ y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía

de columna obteniéndose el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido isonicotínico (rendimiento - 76%).

5 Ejemplo 3

Empleando el mismo procedimiento del ejemplo 2, se prepararon los siguientes compuestos:

a) éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il-metilico del ácido nicotínico (rendimiento - 76%);

b) O-[2-[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxicarbonil]etil]-O'-metilpolietilenglicol 2000 (rendimiento - 88%);

c) éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piridin-4-il acético (rendimiento - 39%);

d) éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piridin-3-il acético (rendimiento - 94%);

e) éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piridin-2-il acético (rendimiento - 65%);

f) éster mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido succínico (empleados 3 equiv. de EDC y DMAP y 2,4 equiv. de ácido, purificado mediante TLC preparativa) (rendimiento - 89%);

1,2 equivalentes de $\text{ClCH}_2\text{OSO}_2\text{Cl}$ en 1:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{H}_2\text{O}$. La reacción se agitó vigorosamente a 0°C durante 30 minutos y a continuación a temperatura ambiente ("TA") durante 3 horas. El tratamiento con agua proporcionó el clorometildecanoato
5 (rendimiento 100%).

b) Se disolvió 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona (20 mg, 0,05 mmoles) (ver patente EP 0 328 8026) en DMF y se trató con Cs_2CO_3 (49 mg, 0,15 mmoles) durante unos pocos minutos, se añadió el
10 éster de clorometilo (33 mg, 0,15 mmoles) preparado en el paso anterior a), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El tratamiento con agua, seguido por la purificación mediante cromatografía flash proporcionó el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-ni-
15 tro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido decanoico (rendimiento - 58%).

Ejemplo 6

Los siguientes compuestos se prepararon de manera similar al ejemplo 5b anterior:

20 a) éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido [2-(2-metoxi-etoxi)-etoxi]-acético (el clorometilo de partida se preparó a partir del correspondiente ácido como se describe en el ejemplo 5a; se purificó me-
25 diante TLC preparativa (rendimiento - 38%);

b) éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 2,2-dimetil-propiónico (el pivalato de cloro-

metilo de partida se adquirió en Aldrich) (rendimiento - 91%).

Ejemplo 7: Trifluoracetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 3-amino-ciclohexanocarboxílico

a) Se preparó el clorometil-N-t-butiloxicarbonil-3-amino-ciclohexanocarboxilato, de manera similar (rendimiento 8%) como se describe en el ejemplo 5a a partir del ácido N-t-butiloxicarbonil-3-amino-ciclohexanocarboxílico, el cual a su vez se sintetizó mediante el procedimiento ya conocido de proteger con BOC el ácido 3-amino-ciclohexanocarboxílico (Aldrich).

b) Se disolvió la 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona (68 mg, 0,15 mmoles) (ver patente EP 0 328 8026) en DMF y se trató con Cs_2CO_3 (0,15 g, 0,45 mmoles) durante unos pocos minutos. Se añadió el éster de clorometilo (0,13 gm, 0,45 mmoles) preparado en el paso a) anterior, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 50 minutos. Se trató con agua y a continuación se procedió a la purificación mediante cromatografía flash, obteniéndose el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido [N-a-butiloxi-3-amino-ciclohexanocarboxílico] (rendimiento - 95%)

c) El grupo protector terc-butiloxi del compuesto del paso b) anterior, se eliminó mediante tratamiento con TFA en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente durante 50 minutos. El

TFA y el CH_2Cl_2 se evaporaron empleando una corriente de nitrógeno. El residuo se purificó mediante HPLC obteniéndose el trifluoroacetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 3-amino-ciclohexanocarboxílico (rendimiento - 57%).

Ejemplo 8

Se prepararon los siguientes compuestos de manera similar al ejemplo 7a, b y c, descritos anteriormente:

- 10 a) Trifluoroacetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico (preparado a partir del ácido N-t-butiloxycarbonil-piperidin-4-carboxílico (Bachem)) (rendimiento - 62%);
- 15 b) Trifluoroacetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 2-amino-2-metil-propiónico (preparado a partir del ácido N-t-butiloxycarbonil-aminoisobutírico (Bachem)) (rendimiento - 63%).

- 20 Ejemplo 9: Sal de acetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico

Se disolvió el trifluoroacetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico, preparado como en el ejemplo 8a de más arriba, en acetato de etilo. La solución resultante se neutralizó con NaHCO_3 saturado frío. La capa de acetato de

etilo se concentró y se dispersó en H₂O y se acidificó con un exceso de HOAc y se liofilizó obteniéndose el producto deseado (rendimiento - 97%).

Ejemplo 10: Hidrocloruro del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico

Se disolvió la sal de acetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico, preparado como en el ejemplo 9 de más arriba, en acetato de etilo. La solución de acetato de etilo se neutralizó con NaHCO₃ saturado en frío, se concentró y se trató con 1:5 CH₃CN:H₂O. La solución resultante se trató con 2 equivalentes de HCl acuoso 2N, y se purificó mediante HPLC obteniéndose el producto deseado (rendimiento - 86%).

Ejemplo 11: Hidrocloruro del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 2-amino-2-metil-propiónico

Este compuesto se preparó a partir del trifluoroacetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 2-amino-2-metil-propiónico, preparado como en el ejemplo 8b, empleando un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 10 (rendimiento - 71%).

Ejemplo 12: Trifluoroacetato de 1-metil-3-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetoxicarbonilo]-piridinio

Una solución del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido nicotínico, en CH₃CN, preparado como se describe en el ejemplo 3a, se trató con 2 equivalentes de NaBPH₄, y 6 equivalentes de MeI. La reacción se agitó a reflujo durante 7 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante HPLC obteniéndose el trifluoroacetato de 1-metil-3-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-ilmetoxicarbonil]-1-piridinio (rendimiento 52%).

Ejemplo 13: O-[2-[[4-[[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-1H-pirrol-1-il]metoxi]carbonil]-1-piperidinil]carbonil]etil]-O'-metilpolietilenglicol 1000

Se disolvió el trifluoroacetato de 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1-(4-piperidincarboximetil)-1H-pirrol-2,5-diona, preparado como en el ejemplo 8a, en acetato de etilo. La solución resultante se neutralizó con NaHCO₃ saturado frío. La capa de acetato de etilo se concentró y el residuo se trató con CH₃CN. La solución se añadió gota a gota a una solución de cloruro de ácido O-(2-carboxietil)-O'-metilpolietilenglicol 1000 (preparado a partir de ácido O-(2-carboxietil)-O'-metilpolietilenglicol 1000, empleando el procedimiento estándar) en CH₃CN. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. El disolvente

se evaporó y el residuo se purificó mediante HPLC (rendimiento 70%).

Ejemplo 14: Sal monosódica del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 4-fosfonooxi-benzoico

a) Se añadió gota a gota, t-BuOK (9,6 ml, 9,6 mmoles, 1M en THF), a una solución de 4-hidroxibenzaldehído (1,10 g, 9 mmoles) en THF (40 ml). La mezcla se calentó a 70°C y se añadió pirofosfato de tetrabencilo (5,05 g, 9,37 mmoles) en THF (20 ml). Después de 1 hora, se agregó THF (100 ml) y hexanos (200 ml). La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se evaporó.

La cromatografía del residuo sobre sílice empleando 2%-5%-10% de metanol-CH₂Cl₂ proporcionó el éster 4-formil-fenílico del éster dibencílico del ácido fosfórico (3,38 g, 98%).

b) Fosfato monosódico monohidrato (79 mg, 0,57 mmoles) en agua (1 ml) se añadió a una solución del éster 4-formil-fenílico del éster dibencílico del ácido fosfórico (0,89 g, 2,32 ml) (a partir del paso a) de más arriba) en MeCN (10 ml) a 0°C. Se añadió peróxido de hidrógeno (0,24 ml, 30% en agua, 2,4 mmoles), y seguidamente clorito de sodio (315 mg, 3,5 mmoles) en agua (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hora, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió tiosulfato de sodio (100 mg) y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 15 minutos. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con agua, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para dar

el éster 4-carboxil-fenílico del éster dibencílico del ácido fosfórico (880 mg, 94%) en forma de un sólido ceroso de color amarillo pálido.

c) Una solución del éster 4-carboxil-fenílico del éster dibencílico del ácido fosfórico (205 mg, 0,5 mmoles) (del paso b) de más arriba) en CH_2Cl_2 (2 ml), se añadió a una solución de hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil)carbodiimida (149 mg, 0,78 mmoles) (Aldrich) y dimetilaminopiridina (139 mg, 1,13 mmoles) en CH_2Cl_2 (5 ml). Después de 5 minutos, se añadió 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (215 mg, 0,5 mmoles), preparada como en el ejemplo 1a, en CH_2Cl_2 (2 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla resultante se repartió entre CH_2Cl_2 y agua y los extractos orgánicos se lavaron con agua. La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos se reunieron, se secaron (MgSO_4) y se concentraron. La cromatografía del residuo sobre sílica gel empleando 5% - 10% de EtOAc - CH_2Cl_2 proporcionó el éster 3-(1,6-dimetil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 4-(bis-benciloxi-fosforiloxi)-benzoico (179 mg, 44%) en forma de una espuma de color naranja.

d) Se añadió 1,4 ciclohexadieno (0,12 ml, 1,26 mmoles) (Aldrich) a una mezcla del éster 3-(1,6-dimetil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 4-(bis-benciloxi-fosforiloxi)-benzoico (100 mg, 0,12 mmoles) (a partir del paso

c) de más arriba) y Pd/C (37 mg 10%) en una mezcla de THF (6 ml) y etanol (0,3 ml). La mezcla de reacción se calentó a 55°C durante 20 minutos, La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de celite, se lavó con cloruro de metileno y se concentró. El residuo se disolvió en MeCN y agua a 0°C. Se añadió hidróxido de sodio 1N (2,4 ml, 2,4 mmoles) y la mezcla se liofilizó. La mezcla resultante se purificó a continuación mediante HPLC con 5 a 50% de MeCBN - agua. La liofilización proporcionó la sal monosódica del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 4-fosfonooxi-benzoico (60 mg, 74%) en forma de un polvo de color naranja.

Ejemplo 15: [[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1 metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxicarbonil]-4-fenil-O-metilpolietilenglicol 500

a) PEG-500 monometil éter anhidro (18,36 g, 33 mmoles), 4-hidroxibenzoato de etilo (5,0 g, 30 mmoles) y tri-fenilfosfina (17,34, 66 mmoles), se disolvieron en THF anhidro (100 ml) y se enfriaron a 0°C en atmósfera de argón. A la solución obtenida se añadió lentamente dietilazodicarboxilato (12,95 ml, 83 mmoles) en THF anhidro (10 ml). La mezcla resultante se calentó a continuación a 50°C durante 16 horas. La mezcla se enfrió a 0°C en atmósfera de argón y se añadió dietilazodicarboxilato (6 ml) en THF anhidro (5 ml). A continuación, se calentó la mezcla a 50°C durante 24 horas. La evaporación de los disolventes y la cromatografía del residuo sobre silica gel usando 1:1 CH₂Cl₂-hexanos,

CH₂Cl₂, éter 50%/-CH₂Cl₂, y éter, proporcionó 9 g de benzoato de etil-4-O-metilpolietilenglicol 500 crudo, en forma de un aceite, 5,4 g de un aceite de color naranja (3/2 moles % de trifenilfosfina/producto), y 4,9 g (aprox. 58% de rendimiento total) de un aceite de color naranja (5/4 moles % de trifenilfosfina/producto).

b) A una solución de benzoato de etil-4-O-metilpolietilenglicol 500 crudo (4,90 g, 5/4 moles % de trifenilfosfina/producto) (a partir del paso a) anterior) en metanol (10 ml) y agua (15 ml), se añadió NaOH 6N (13,8 ml, 83 mmoles)), y la solución resultante se calentó a 65°C durante 2 horas. La solución se concentró y repartió entre CH₂Cl₂ 30%/acetato de etilo y agua. La capa acuosa se enfrió a 0°C y se acidificó a pH 3,0 con HCl 1N. La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ y los extractos orgánicos se secaron (MgSO₄). La evaporación de los disolventes orgánicos proporcionó el ácido 4-O-metilpolietilenglicol 500 benzoico crudo (2,3 g, 49%) en forma de un residuo ceroso de color amarillo (la muestra contenía un 20-30% molar en exceso de PEG 500).

c) Una solución de ácido 4-O-metilpolietilenglicol 500 benzoico crudo (679 mg, 1 mmol) (a partir del paso b) de más arriba) en CH₂Cl₂ anhidro (5 ml), se añadió a temperatura ambiente, a una solución de hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (300 mg, 1,56 mmoles) (Aldrich) y dimetilaminopiridina (279 mg, 2,28 mmoles) en CH₂Cl₂ anhidro (5 ml). Después de 5 minutos, se añadió 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (430 mg, 1 mmol), preparado

como en el ejemplo 1a. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos se lavaron con agua, se secaron (MgSO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante HPLC con MeCN/agua para dar [[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxycarbonil]-4-fenil-O-metilpolietilenglicol 500 (490 mg 47%) en forma de un aceite de color naranja.

10 **Ejemplo 16:** Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del éster alílico del ácido carbónico

Una solución de 200 mg (0,47 mmoles) de 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona, preparada como en el ejemplo 1a, se disolvió en 90 ml de THF y se trató con 300 mg (2,5 mmoles) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A esta solución a 5°C se añadieron 90 mg (0,75 mmoles) de cloroformiato de alilo. Manteniéndolo frío, se añadieron gota a gota, 300 mg (2,4 mmoles) de 1,5-diazabicyclo(4.3.0)non-5-eno (DBN) (Aldrich). Se agitó la mezcla durante 14 horas a 20°C. El disolvente se evaporó y la mezcla se purificó mediante cromatografía empleando sílica gel y eluyendo con una mezcla de EtOAc/hexano para proporcionar el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del éster alílico del ácido carbónico, en forma de un sólido de color rojo (p.f. 191-194°C).

Ejemplo 17: Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-dimetilamino-etil)-carbámico

Se disolvió la 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (200 mg, 0,47 mmoles), preparada como en el ejemplo 1a, en THF (10 ml). La solución resultante de color rojo se enfrió en un baño de hielo. Se añadió gota a gota litio bis(trimetilsilil)amida (0,56 ml, 0,56 mmoles, 1 M en THF), a la solución dando una suspensión de color rojo. Después de 10 minutos, se añadió el bis(p-nitrofenil)carbonato (200 mg, 0,66 mmoles). La solución resultante se agitó a 0°C durante 20 minutos. Se añadió dietilaminoetilamina (90 mg, 0,78 mmoles) en THF (2 ml). Se continuó la agitación durante 2 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía flash dando el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-dimetilamino-etil)-carbámico (124 mg 46%).

Ejemplo 18: Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido [2-(2-hidroxi-etoxi)-etil]-carbámico

Este compuesto se preparó a partir del 1-amino-2-etoxi-etanol (Aldrich), empleando el mismo procedimiento del ejemplo 17 (45 mg, 17%).

Ejemplo 19: Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-hidroxi-etil)-carbámico

Se añadió n-BuLi (0,96 ml, 1,54 mmoles, 1,6 M en hexanos) gota a gota a una solución de 1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (600 mg, 1,54 mmoles), preparada como en el ejemplo 1a, en THF (30 ml) a 0°C. Después de 10 minutos se añadió bis(p-nitrofenil)carbonato (600 mg, 1,96 mmoles). La solución se agitó a 0°C durante 20 minutos. Se añadió una solución de 1-aminoetanol (128 mg, 2,10 mmoles). La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 30 minutos. Se añadió NH₄Cl acuoso y la mezcla se extrajo con EtOAc. El extracto orgánico se lavó con sal muera y se secó con MgSO₄. La evaporación de los disolventes y la cromatografía del residuo sobre sílica gel empleando 1:1 - 3:2 EtOAc/hexanos, proporcionó el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-hidroxi-etil)-carbámico (339 mg 47%).

Ejemplo 20: Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-fosfonooxi-etil)-carbámico

a) Se añadieron trifenilfosfina (95 mg, 0,36 mmoles) y fosfato de dibencilo (101 mg, 0,36 mmoles), a una solución de éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-hidroxi-etil)-carbámico, preparado como en el ejemplo 19 (150 mg, 0,289 mmoles) en THF (6 ml). La mezcla se enfrió a -78°C. Se añadió azodicarboxilato de dietilo (0,057 ml, 0,36 mmoles) gota a gota durante 5 minutos. Se

quitó el baño de enfriamiento y la mezcla se agitó durante la noche. A continuación, se evaporó la mezcla. La cromatografía del residuo sobre sílica gel empleando 2:1 - 4:1 EtOAc/hexanos proporcionó el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido [2-bis-benciloxi-fosforiloxi)-etil]-carbámico (121 mg, 54%).

b) Se añadieron Pd/C (33 mg, 10%) y 1,4-ciclohexadieno (0,12 ml, 1,27 mmoles), a una solución de éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido [2-bis-benciloxi-fosforiloxi)-etil]-carbámico (115 mg, 0,148 mmoles) en una mezcla de THF (5 ml) y EtOH (0,25 ml). La mezcla se calentó a 50-55°C durante 30 minutos. La mezcla resultante se filtró a través de celite, se lavó con THF y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en una mezcla de EtOH (10 ml) y CH₃CN (10 ml). Se añadió NaOH 0,1 N y el pH se ajustó a 8,2. Se añadió agua (10 ml) para disolver el precipitado. Los disolventes orgánicos se eliminaron al vacío y la solución de color rojo se liofilizó obteniéndose el éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-fosfono-oxi-etil)-carbámico (59 mg, 62%) en forma de un polvo de color naranja.

Ejemplo 21: (2-dietilamino-etil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico

A una solución en frío de la 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona (200 mg, 0,5 mmoles) (ver patente EP 0 328 8026) en THF (7 ml) se añadió gota a gota, litio bis(trimetilsilil)amida (0,55 mmoles, 0,55 ml, 1M en THF). La suspensión resultante de color rojo se agitó durante 15 minutos. Se añadió bis(p-nitrofenil)carbonato (213 mg, 0,7 mmoles). La solución se agitó a 0°C durante 0,5 horas. Se añadió dietilaminoetilamina (69,7 mg, 0,6 mmoles) en THF (2 ml), y se continuó agitando durante 2 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía flash obteniéndose la (2-dietilamino-etil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico (28 mg, 10%).

Ejemplo 22: (6-dimetilamino-hexil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico

Este compuesto se preparó a partir de la dimetilaminohexilamina de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 21 (67 mg, 24%).

Ejemplo 23: (4-hidroxibutil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico

A una solución en frío de la 3-(1-metil-3-indolil)-4-(1-metil-6-nitro-3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona (500 mg, 1,25 mmoles) (ver patente EP 0 328 8026) en THF (7 ml) se añadió gota a gota, n-butillitio (0,86 mmoles, 1,375 ml, 1,6 M en hexano). La suspensión resultante de color rojo se

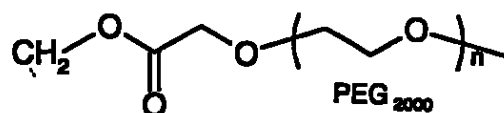
agitó durante 15 minutos. A continuación, se añadió bis(p-nitrofenil)carbonato (532 mg, 1,75 mmoles). La solución resultante se agitó a 0°C durante 1 hora. Se añadió 4-amino-butanol (167 mg, 1,875 mmoles) en THF (4 ml), y se continuó
5 agitando durante 2 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía flash obteniéndose la (4-hidroxibutil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico (280 mg, 43%), en forma de un sólido
10 lido de color naranja.

Ejemplo 24: Sal de sodio del éster mono-(4-{[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino}-butílico del ácido fosfórico

15 a) Se añadieron trifenilfosfina (0,86 g, 3,29 mmoles) y fosfato de dibencilo (0,91 g, 3,29 mmoles) a una solución de la (4-hidroxibutil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico, (preparada como en el ejemplo 23,
20 1,41 g, 2,74 mmoles) en THF (50 ml). La mezcla se enfrió a -78°C. Se añadió azodicarboxilato de dietilo (0,52 ml, 3,29 mmoles) gota a gota durante 5 minutos. Se quitó el baño de enfriamiento y después de 2 horas, se evaporó la mezcla. La cromatografía del residuo sobre silica gel empleando 2:1
25 EtOAc/hexano, a continuación EtOAc, proporcionó el éster 4-([3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino)-butílico del éster dibencilico del ácido fosfórico (1,76 g 83%).

b) Se añadieron Pd/C (0,5 g, 10%) y 1,4-ciclohexadieno (1,84 ml, 19 mmoles), a una solución de éster 4-([3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino)-butílico del éster dibencílico del ácido fosfórico (1,76 g, 2,27 mmoles) (a partir del paso a) de más arriba) en una mezcla de THF (75 ml) y EtOH (3,8 ml). La mezcla resultante se calentó a 50-55°C durante 30 minutos. La TLC (EtOAc) mostró solamente la existencia de trazas del éster 4-([3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino)-butílico del éster dibencílico del ácido fosfórico. La mezcla se filtró a través de celite y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en una mezcla de EtOH (100 ml) y CH₃CN (100 ml) y se alcalinizó con NaOH (0,2 N) hasta pH=8,2. Se añadió agua (50 ml) para disolver el precipitado, Los disolventes orgánicos se eliminaron al vacío y la liofilización de la solución de color rojo proporcionó el producto crudo (1,2 g). La purificación del residuo empleando la HPLC (10% - 90% CH₃CN - H₂O) proporcionó la sal de sodio del éster mono-(4-([3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino)-butílico del ácido fosfórico (0,49 g, 34%) en forma de un polvo de color rojo.

25 Ejemplo 25: O-[2-[[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-1H-pirrol-1-il]metoxi]carbonil]metil]-O'-metilpolietilenglicol 2000



Se calentó poli(etilenglicol)metil éter de peso molecular medio aproximado 2000 (Aldrich) (4,4 g 2,2 mmoles) en tetrahydrofurano (120 ml) aproximadamente a 35-40°C y al mismo se añadió hidruro de sodio (0,6 g de 60%, 15 mmoles), y la mezcla se agitó durante 15 minutos más. En dos porciones durante 5 minutos, se añadió bromoacetato de terc-butilo (1,2 g, aprox. 6,2 mmoles) y la mezcla se calentó a 45-50°C durante 4 horas. La mezcla se enfrió a aproximadamente 30°C, se diluyó con éter etílico (100 ml), se filtró en caliente a través de celite y la torta del filtro se lavó con tetrahydrofurano. Los disolventes orgánicos se eliminaron por evaporación y el residuo se cromatografió sobre sílica gel. El éster terc-butílico purificado similarmente preparado (12,5 g) se trató con ácido trifluoroacético (75 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. La evaporación de la solución y cristalización con éter etílico frío proporcionaron 9,0 gramos de ácido metoxi PEG 2000 etanoico.

Una solución de ácido metoxi PEG 2000 etanoico (9,0 g, 4,5 mmoles) en diclorometano (50 ml) se trató con cloruro de oxalilo (10 ml), se calentó suavemente a reflujo durante 15 minutos y se continuó con la adición de trazas de dime-
25 tilformamida (0,1 ml). El reflujo se continuó durante 15 minutos adicionales y se añadió tolueno (50 ml) y los volátiles se eliminaron por evaporación. El residuo se disolvió en diclorometano (50 ml) y se añadió a una dispersión de 1-

hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (1,93 g, 4,5 mmoles) (preparado como en el ejemplo 1a) y 4-dimetilaminopiridina (1,1 g, 9 mmoles) en diclorometano (25 ml) a -50°C. El baño de enfriamiento se eliminó y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se vertió sobre silica gel (200 g) en diclorometano. La purificación mediante cromatografía y cristalización del residuo a partir del tetrahidrofurano-éter etílico proporcionó el O-[2-[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxycarbonil]metil-O'-metil-polietilenglicol 2000 en forma de un sólido de color rojo (rendimiento 63%).

15 **Ejemplo 26: Actividad antiproliferativa**

La actividad antiproliferativa de los compuestos de la invención se demuestra a continuación. Estos efectos indican que los compuestos de la presente invención son de utilidad en el tratamiento del cáncer, en particular tumores sólidos tales como los tumores de mama y de colon.

20 **Ensayo basado en las células MDAMB-435**

La línea celular de carcinoma de mama epitelial (MDAMB-435) se adquirió en ATCC (American Type Cell Culture Collection) ("Colección Americana de Cultivos Celulares Tipo"), y se hizo crecer en cultivo en un medio siguiendo las recomendaciones de ATCC. Para el análisis del efecto de varios compuestos de fórmula I sobre el crecimiento de estas células, estas células se plaquearon a una concentración de 1500 células/ pocillo en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos

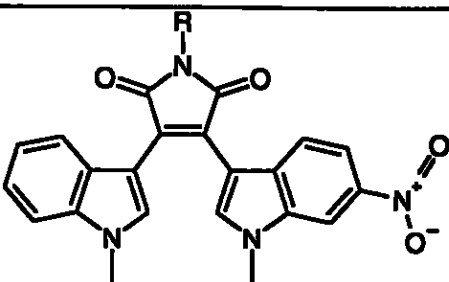
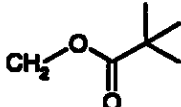
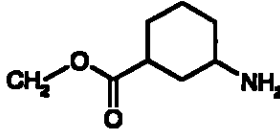
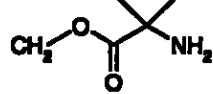
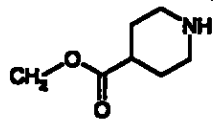
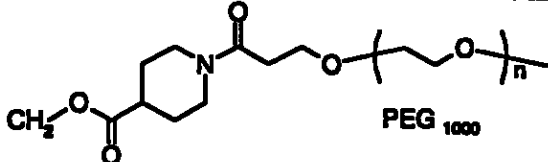
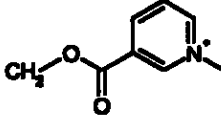
("placa de ensayo"). El día después de que las células fueron
plaqueadas, los compuestos que debían ser analizados se di-
solvieron en 100% de DMSO (sulfóxido de dimetilo) obteniéndose
se una solución de stock 10 mM. Cada compuesto se diluyó en
5 H₂O hasta 1 mM y se añadió por triplicado a pocillos en la
primera fila de una placa maestra de 96 pocillos que contenía
un medio para lograr una concentración final de 40 µM. A con-
tinuación, los compuestos se diluyeron en una serie, en la
"placa maestra". El (los) compuesto(s) diluido(s) se transfi-
10 rió(eron) a continuación a placas de ensayo conteniendo las
células. Una fila de vehículo "células de control" recibió
DMSO. La concentración final de DMSO en cada pocillo fue de
0,1%. 5 días después de la adición del fármaco, la placa fue
analizada como se describe más adelante.

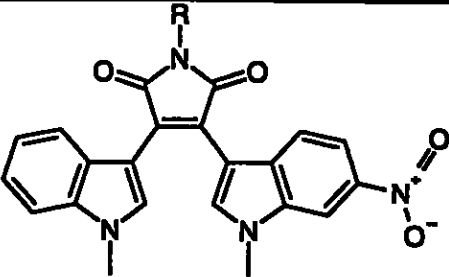
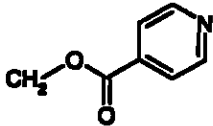
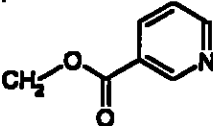
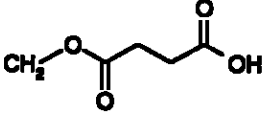
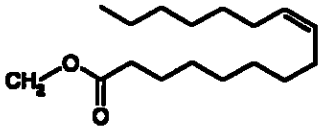
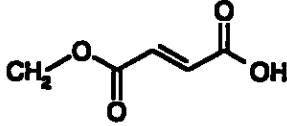
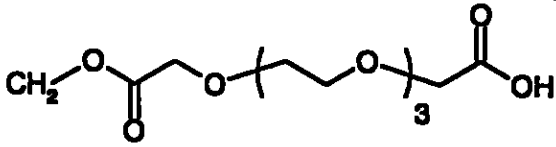
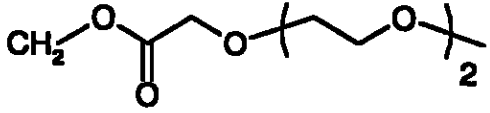
15 A cada pocillo se añadió MTT (bromuro de 3-(4-5 metil
tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolo; azul de tiazolilo) hasta
lograr una concentración final de 1 mg/ml. A continuación, se
incubó la placa a 37°C durante 2 1/2 - 3 horas. El medio con-
teniendo MTT se eliminó a continuación y se añadieron 50 µl
20 de etanol 100% a cada pocillo para disolver el formazano. A
continuación, se leyeron las absorbancias empleando un lector
de placas automático (lector Bio-tek de microplacas). Se cal-
cularon los IC₅₀ empleando la ecuación de Reed and Munsch,
ver Am. J. Hygiene vol. 27 pags. 493-497, 1938.

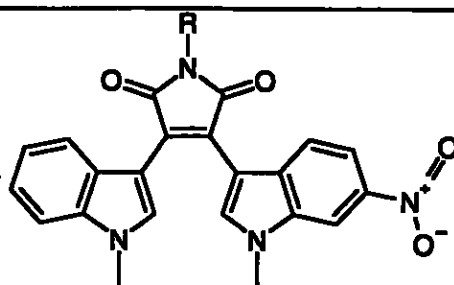
25 Los resultados de los experimentos *in vitro* están re-
sumidos en la tabla I a continuación.

Cada uno de los compuestos de la tabla I dió un IC₅₀
≤ 1,00 µM.

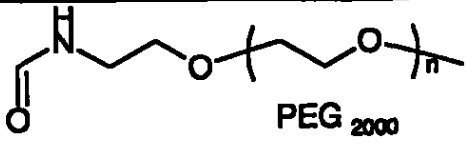
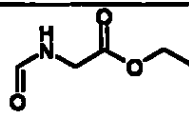
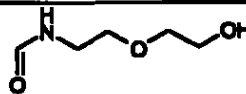
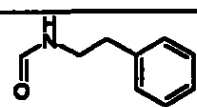
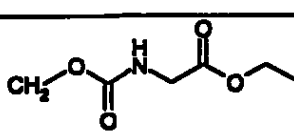
TABLA I

		
Ejemplo	R	Esquema
6b		1a
7		1a
8b,11		1a
8a, 9, 10		1a
13	 PEG 1000	1b
12		1b

		
Ejemplo	R	Esquema
2		lb
3a		lb
3f		lb
5		la
3g		lb
4		lb
3h		lb
6a		la

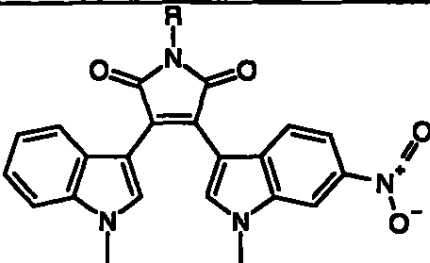
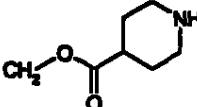
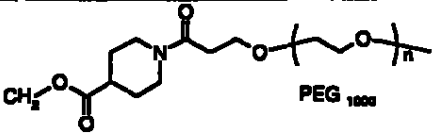
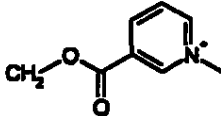
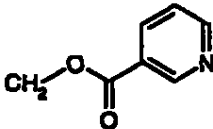
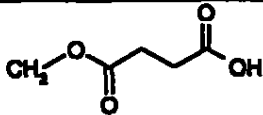
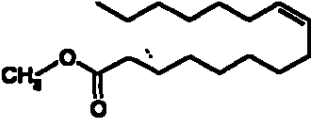
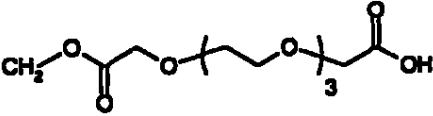


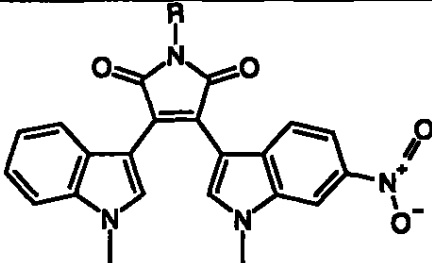
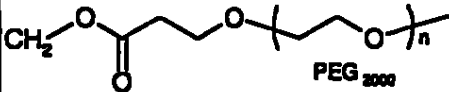
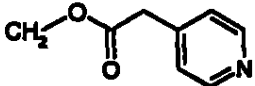
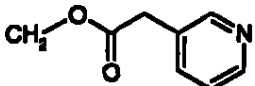
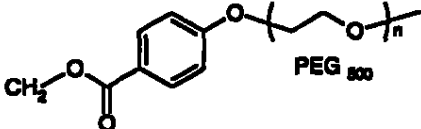
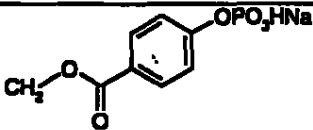
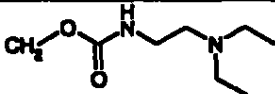
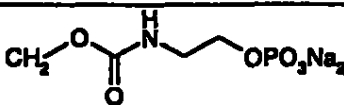
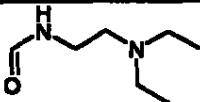
Ejemplo	R	Esquema
19		IV
20		IV
1	CH ₂ OPO ₃ Na ₂	II
21		V
22		V
23		V
24		V
25		Ib

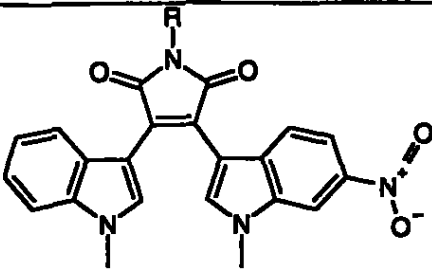
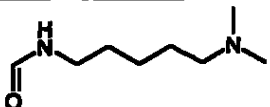
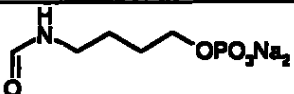
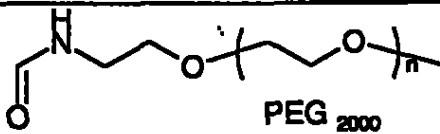
	 PEG 2000	V
		V
		V
		V
		IV
1	-CH ₂ OH	I

Las mediciones de la conversión del plasma de compues-
tos representativos de fórmula I indican que estos compues-
tos producen en efecto metabolitos farmacéuticamente acti-
vos dentro de los marcos de tiempo apropiados para el em-
pleo terapéutico. Además, las mediciones de estabilidad
también para ciertos compuestos representativos de fórmula
I muestran adicionalmente que estos compuestos tienen una
mediana a buena estabilidad en los tipos de soluciones em-
pleadas típicamente para administrar los fármacos terapéu-
ticos por vía intravenosa. Los resultados de estas medicio-
nes de conversión del plasma y de la estabilidad están re-
sumidos en la tabla II a continuación. De esta forma, estos
compuestos son adecuados para la administración a los pa-
cientes mediante infusión continua.

TABLA II

				
Ejemplo	R	Estabi- lidad	conversion del plasma	Esquema
8a, 9, 10		Bueno	30% @30min	1a
13		Bueno	N/D*	1b
12		Mediano	60% @30min	1b
3a		Bueno	70% @30min	1b
3f		Bueno	20% @30min	1b
3g		Bueno	N/D*	1b
3h		Mediano	N/D*	1b

				
Ejemplo	R	Estabi- lidad	Conversión del plasma	Esquema
3b		Bueno	80% @30min	Ib
3c		Bueno	60% @30min	Ib
3d		Bueno	70% @30min	Ib
15		Bueno	100% @2hrs	Ib
14		Bueno	5% @4hrs	Ib
17		Bueno	15% @6hrs	IV
20		Bueno	N/D*	IV
1	$\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{Na}_2$	Bueno	100% @30min	II
21		Mediano	100% @1hr	V

				
Ejemplo	R	Estabi- lidad	Conversión del Plasma	Esquema
22		Bueno	N/D*	V.
24		Bueno	10% @6hrs	V
1	 PEG 2000	Bueno	N/D*	V

Ejemplo 27: Formulación para comprimidos

Muestra	Ingredientes	mg/comprimido					
		5	25	100	250	500	750
1	Compuesto A *	5	25	100	250	500	750
2	Lactosa anhidra	103	83	35	19	38	57
3	Croscarmelosa sódica	6	6	8	16	32	48
4	Povidone K30	5	5	6	12	24	36
5	Estearato de magnesio	1	1	1	3	6	9
	Peso total	120	120	150	300	600	900

* El compuesto A representa un compuesto de la invención.

Procedimiento de elaboración

- 1. Mezclar los productos 1, 2 y 3 en un mezclador adecuado durante 15 minutos.
- 2. Granular la mezcla de polvo del paso 1 con solución al 20% de Povidone K30 (producto 4).
- 3. Secar el granulado del paso 2 a 50°C.
- 4. Pasar el granulado del paso 3 a través de un equipo adecuado de molienda.
- 5. Añadir el producto 5 al granulado molido del paso 4 y mezclar durante 3 minutos.
- 6. Comprimir el granulado del paso 5 mediante una prensa adecuada.

Ejemplo 28: **Formulación de cápsulas**

Muestra	Ingredientes	mg/cápsula				
		5	25	100	250	500
1	Compuesto A *	5	25	100	250	500
2	Lactosa anhidra	159	123	148	---	---
3	Almidón de maíz	25	35	40	35	70
4	Talco	10	15	10	12	24
5	Estearato de magnesio	1	2	2	3	6
	Peso total del relleno	200	200	300	300	600

* El compuesto A representa un compuesto de la invención

Procedimiento de elaboración:

- 1. Mezclar los productos 1, 2 y 3 en un mezclador adecuado durante 15 minutos.
- 2. Añadir los productos 4 y 5 y mezclar durante 3 minutos.
- 3. Introducir en una cápsula adecuada.

Ejemplo 29: Preparación de una solución/emulsión para inyección

Muestra	Ingrediente	mg/ml
1	Compuesto A *	1 mg
2	PEG 400	10 - 50 mg
3	Lecitina	20 - 50 mg
4	Aceite de soja	1 - 5 mg
5	Glicerina	8 - 12 mg
6	Agua c.s.	1 ml

* El compuesto A representa un compuesto de la invención

5 **Procedimiento de elaboración:**

1. Disolver el producto 1 en el producto 2.
2. Añadir los productos 3, 4 y 5 al producto 6 y mezclar hasta dispersión; a continuación, homogeneizar.
3. Añadir la solución del paso 1 a la mezcla del pa-
10 so 2 y homogeneizar hasta que la dispersión sea traslúcida.
4. Filtrar estéril a través de un filtro de 0,2 µm y envasar en viales.

Ejemplo 30: Preparación de una solución/emulsión para inyección

15

Muestra	Ingrediente	mg/ml
1	Compuesto A *	1 mg
2	Glicofurol	10 - 50 mg
3	Lecitina	20 - 50 mg
4	Aceite de soja	1 - 5 mg
5	Glicerina	8 - 12 mg
6	Agua	c.s. 1 ml

* El compuesto A representa un compuesto de la invención

Procedimiento de elaboración

1. Disolver el producto 1 en el producto 2.
2. Añadir los productos 3, 4 y 5 al producto 6 y mezclar hasta dispersión, a continuación, homogeneizar.
- 5 3. Añadir la solución del paso 1 a la mezcla del paso 2 y homogeneizar hasta que la dispersión sea traslúcida.
4. Filtrar estéril a través de un filtro de 0,2 μm y envasar en viales.

Mientras la invención ha sido ilustrada mediante referencia a versiones específicas y preferidas, los expertos en la especialidad habrán comprendido que pueden introducirse variaciones y modificaciones a través de la experimentación de rutina y práctica de la invención. De esta forma, la invención se pretende que no esté limitada por la
10 precedente descripción sino que esté definida mediante las reivindicaciones del apéndice y sus equivalentes.
15

20

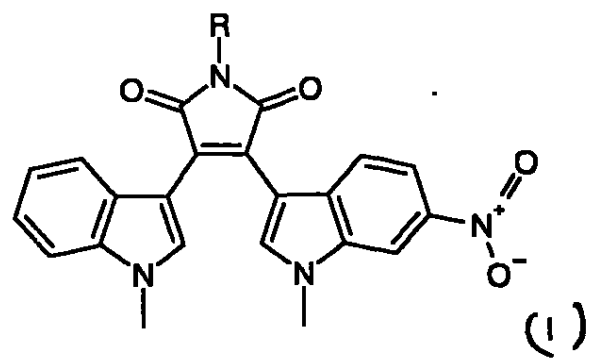
25

30

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:

5



10 y las sales farmacéuticamente activas de dichos compuestos, en donde

R está seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, $-\text{CH}_2\text{OH}-$, $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$, y $-\text{CONHR}^3$;

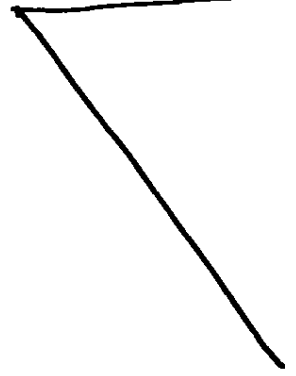
15 R^1 y R^2 se seleccionan del grupo que consiste en H, Na y NH_4 y son los mismos a no ser que cualquiera de R^1 ó R^2 sea H en cuyo caso el otro puede ser diferente, o alternativamente, R^1 y R^2 conjuntamente representan calcio.

R^3 se selecciona del grupo que consiste en

20 alquilo el cual opcionalmente puede estar substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol,

$-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo; alquenilo el cual puede estar opcionalmente substituido con uno o más

25 substituyentes seleccionados del grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo; cicloalquilo que opcionalmente puede estar substituido con uno o más substituyentes seleccionados del



grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo;

Heterociclo, el cual cuando incluye N como un heteroátomo, este N puede estar opcionalmente substituido con el
5 grupo que consiste en alquilo inferior y $-\text{COR}^7$,

Arilo, el cual puede estar opcionalmente substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en CO_2R^4 , hidroxilo, alcoxilo, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, y alquilo, el cual a su vez puede estar substituido con hidroxilo alcoxilo, carboxilo y amino substituido,
10 con la condición de que cuando arilo representa piridina, el nitrógeno puede estar substituido con alquilo inferior;

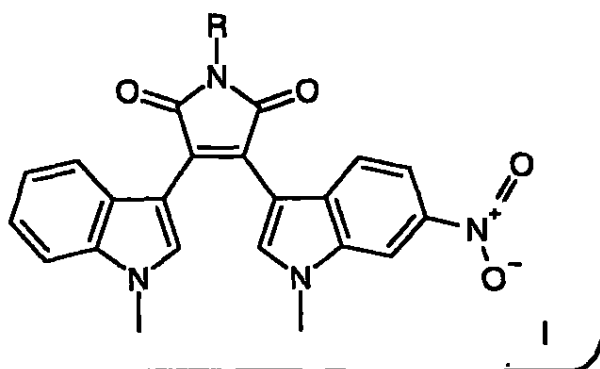
R^4 se selecciona del grupo que consiste en H, Na y alquilo inferior;

15 R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente entre sí, del grupo que consiste en H, alquilo inferior y $-\text{COR}^7$, ó alternativamente, forman junto con el grupo $-\text{NR}^5\text{R}^6$, un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros; y

R^7 es alquilo inferior, el cual puede estar opcionalmente substituido con carboxilo, polietilenglicol y amino substituido.
20 substituido.

2. Un compuesto de fórmula:

25



y las sales farmacéuticamente activas de dichos compuestos, en donde

R está seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$, $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$, y

5 $-\text{CONHR}^3$;

R^1 y R^2 se seleccionan del grupo que consiste en H, Na y NH_4 y son los mismos a no ser que cualquiera de R^1 ó R^2 sea H en cuyo caso el otro puede ser diferente, o alternativamente, R^1 y R^2 conjuntamente representan calcio.

10 R^3 se selecciona del grupo que consiste en

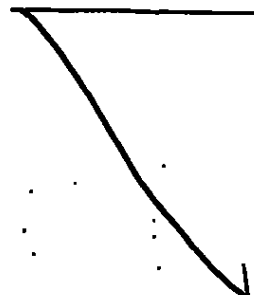
alquilo el cual opcionalmente puede estar substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol,

15 $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo; alquenilo el cual puede estar opcionalmente substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo; cicloalquilo que opcionalmente puede estar substituido con uno o más substituyentes seleccionados del

20 grupo que consiste en $-\text{CO}_2\text{R}^4$, $-\text{NR}^5\text{R}^6$, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, hidroxilo, alcoxilo y arilo;

heterociclo, el cual cuando incluye N como un heteroátomo, este N puede estar opcionalmente substituido con el grupo que consiste en alquilo inferior y $-\text{COR}^7$,

25 arilo, el cual puede estar opcionalmente substituido con uno o más substituyentes seleccionados del grupo que consiste en CO_2R^4 , hidroxilo, alcoxilo, polietilenglicol, $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$, y alquilo, el cual a su vez puede estar substi-



tuido con hidroxí alcóxilo, carboxilo y amino sustituido, con la condición de que cuando arilo representa piridina, el nitrógeno puede estar sustituido con alquilo inferior;

R^4 se selecciona del grupo que consiste en H, Na y al-
5 quilo inferior;

R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente entre sí, del grupo que consiste en H, alquilo inferior y $-COR^7$, ó alternativamente, forman junto con el grupo $-NR^5R^6$, un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros; y

10 R^7 es alquilo inferior, el cual puede estar opcionalmente sustituido con carboxilo, polietilenglicol y amino sustituido.

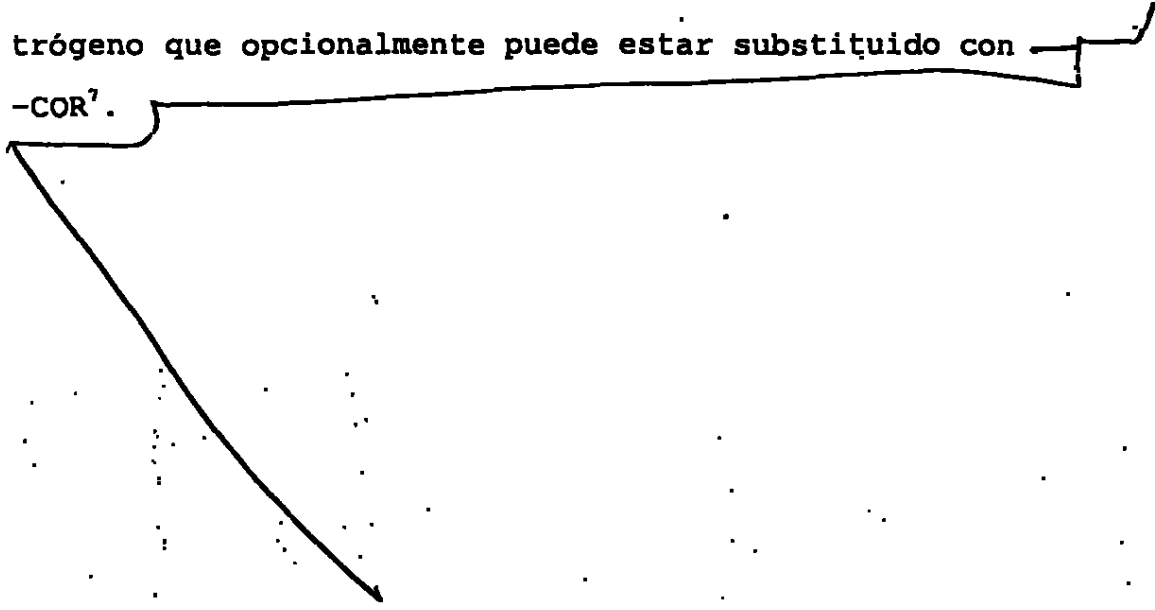
3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R se selecciona del grupo formado por $-CH_2OPO_3R^1R^2$ y $-CH_2OCOR^3$.

15 4. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R es $-CH_2OCO$ -piridina, en donde el átomo de N de la piridina está sustituido con alquilo inferior.

5. El compuesto de la reivindicación 4, en donde el átomo de N de la piridina está sustituido con metilo o
20 etilo.

6. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^1 y R^2 se seleccionan, independientemente entre sí, del grupo formado por H y Na.

7. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^3
25 es un heterociclo que contiene por lo menos un átomo de nitrógeno que opcionalmente puede estar sustituido con $-COR^7$.



8. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^3 es arilo que está substituido con $-OPO_3R^1R^2$, y R^1 y R^2 se seleccionan, independientemente entre sí, entre H y Na.

9. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^3 es arilo el cual está substituido con el grupo formado por $-CO_2Na$, polietilenglicol y $-CH_2CH_2N(CH_2CH_2)_2$.

10. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^3 es alquilo inferior el cual está substituido con $-CO_2Na$.

11. El compuesto de la reivindicación 2, en donde juntamente con el grupo NR^5R^6 , forma un anillo heterociclo de 5 ó 6 miembros.

12. El compuesto de la reivindicación 11, en donde el grupo NR^5R^6 se selecciona entre la piperidina o la pirrolidina.

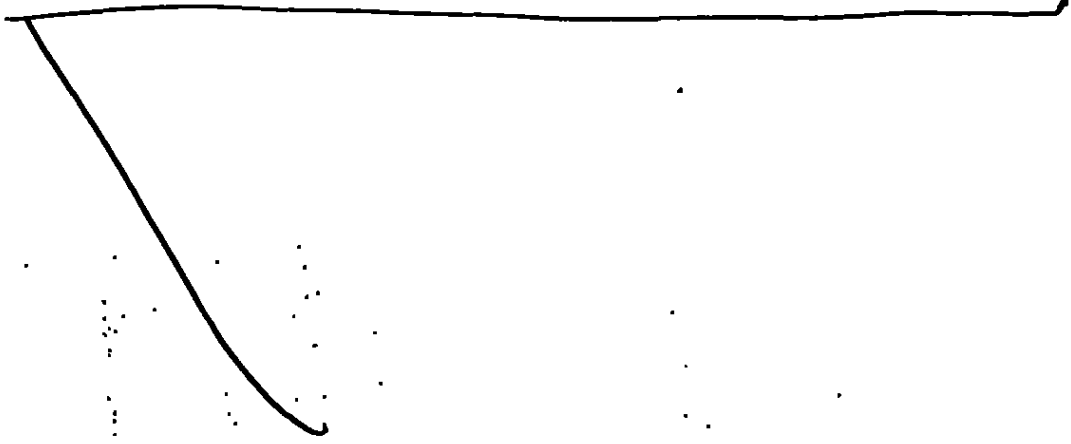
13. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^5 y R^6 están cada uno, independientemente entre sí, seleccionados del grupo formado por H, metilo y etilo.

14. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^7 es etilo, el cual está substituido con polietilenglicol.

15. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R es $-CH_2OCOR^3$ y R^3 es etilo, el cual está substituido con polietilenglicol el cual tiene un peso molecular desde aproximadamente 750 hasta aproximadamente 5000 daltons.

16. El compuesto de la reivindicación 2, en donde el polietilenglicol tiene un peso molecular desde aproximadamente 750 hasta aproximadamente 5000 daltons.

17. Un compuesto seleccionado del grupo formado por:



65

Sal mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil]sódica del ácido fosfórico,

1-hidroximetil-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona,

Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido isonicotínico,

Ester mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico] del ácido but-2-enodioico,

Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido decanoico

15 Trifluoracetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 3-amino-ciclohexanocarboxílico

Sal de acetato del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico

Hidrocioruro del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido piperidin-4-carboxílico

Hidrocioruro del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 2-amino-2-metil-propiónico

Trifluoroacetato de 1-metil-3-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetoxicarbonilo]-piridinio, y

O-[2-[[4-[[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-1H-pirrol-1-il]metoxi]carbonil]-1-piperidinil]carbonil]etil]-O'-metilpolietilenglicol 1000.

18. Un compuesto seleccionado del grupo formado por:

Sal monosódica del éster 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido 4-fosfonooxi-benzoico

[[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxicarbonil]-4-fenil-O-metilpolietilenglicol 500

15 Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del éster alílico del ácido carbónico

Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del
20 ácido (2-dimetilamino-etil)-carbámico

Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido [2-(2-hidroxietoxi)-etil]-carbámico

Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del
25 ácido (2-hidroxietil)-carbámico

Ester 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetílico del ácido (2-fosfonooxi-etil)-carbámico

(2-dietilamino-etil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico

(6-dimetilamino-hexil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico

10 (4-hidroxibutil)-amida del ácido 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carboxílico, y

Sal de sodio del éster mono-(4-([3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino)-butílico del ácido fosfórico.

19. Un compuesto seleccionado del grupo formado por:

Sal de sodio de mono-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetilo] del ácido fosfórico.

20 O-[2-([2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il]metoxycarbonil]etil)-O'-metilpolietilenglicol 2000,

Sal de sodio del éster mono-(4-([3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-carbonil]-amino)-butílico) del ácido fosfórico,

25 Trifluoroacetato de 1-metil-3-[3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetoxycarbonil]-piridinio, y

O-[2-[[[2,5-dihidro-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-4-(1-metil-6-nitro-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-1H-pirrol-1-il]metoxi]carbonil]metil]-O'-metilpolietilenglicol 2000.

20. Una composición farmacéutica que contiene como
5 ingrediente activo una cantidad efectiva de un compuesto de la reivindicación 1, y una carga o excipiente farmacéuticamente aceptable.

21. La composición farmacéutica de la reivindicación
20, la cual es adecuada para la administración parenteral.

10 22. Empleo de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular. *ay. m. lig.*

23. El empleo de la reivindicación 22, en donde el trastorno proliferativo celular es el cáncer.

15 24. El empleo de la reivindicación 23, en donde el cáncer es un tumor sólido.

25. El empleo de la reivindicación 23, en donde el cáncer es un cáncer de mama, colon o pulmones.

20

25

② Los folios 69 a 71 son tarjeta y extracto #2020124.

NOTA: SE RETIRO EL FOLIO
69 QUE CORRESPONDE AL
EXTRACTO PARA PUBLICACION
5/09/02.

Septiembre 23, 2000
Traducción Oficial No. 0298
REF: F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

72
F. Hoffmann la Roche
CASO No. 20'500
69

Certificación No. 1805, expedida por el Consulado de Colombia en Washington, Estados Unidos, en la fecha de Julio 18 del año 2000, con firma de la Vicecónsul de Colombia, Dra. Jaqueline Espitia Arias

Hay sello del Consulado de Colombia en la ciudad de Washington, Estados Unidos de América.

Sellos de Legalización: Ministerio de Relaciones Exteriores, No. 341673, Firma la Vicecónsul de Colombia, Jaqueline Espitia .

Sellos de Legalización: Ministerio de Relaciones Exteriores, fecha Septiembre 21 del año 2000, Hora: 2:42, Firma Jefe de Legalizaciones de Santafé de Bogotá, D. C. Firma ilegible.

Jaqueline Espitia
"TRADUCCIÓN OFICIAL"
"FOLIO 541"
"FEBRERO DE 19.000"

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

341.978

[Signature]

NOTA: FIRMAR EN EL
DOCUMENTO DE SEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 SEP 27 17 24 5

JEFE DE REGISTRO Y
SANTAFE DE BOGOTA D/C

[Signature]

73
70

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
DEPARTAMENTO DE ESTADO

A aquellos a quienes interesa el presente Documento:

Yo, por el presente documento adjunto, certifico que el sello de patente y la Oficina de Marcas y Patentes, del Departamento de Comercio de Los Estados Unidos de América, reconoce que dicho sello da plena fé y credito.*

EN TESTIMONIO DE LO ANTERIOR, yo, Alan Larson, actuando como Secretario de stado, he fijado el sello del Departamento de Estado, así como mi nombre fue suscrito por el Funcionario Asistente de Autenticaciones de dicho Departamento en la ciudad de Washington, en el Distrito de Columbia, el día catorce de Julio del año 2000.

Firma: Suplente Secretario de Estado: Alan Larson

Por: Funcionario Asistente de Autenticaciones

Departamento de Estado

Eduardo Colado
Eduardo Colado Vazquez
TRADUCTOR OFICIAL
INGLES-ESPAÑOL-ES
Rm 411 febrero 11 2000

29
71

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Marcas y Patentes de Los Estados Unidos

Julio 11, 2000

**POR MEDIO DE LA PRESENTE SE CERTIFICA QUE SE ADJUNTA UNA COPIA DE LOS
REGISTROS DE UN DOCUMENTO DE ESTA OFICINA, CON FECHA DE REGISTRO DE
MARZO 20, 2000.**

Autorizado por: COMISIONADO DE MARCAS Y PATENTES

Funcionario Encargado: L. EDELEN.

Hay firma del Funcionario L. EDELEN

Eduardo Calado
Eduardo Calado, Comisionado
-TRADUCTOR (Español a In-
gles) -Español a In-
Res. 541 - febrero 1998

20
72

No. de Expediente: 1094P

Para el Honorable Comisionado de Marcas y Patentes; Favor presentar el documento original adjunto o una copia del mismo.

Nombre del Cedente :

- 1) Nader Fotouhi
- 2) Norman Kong
- 3) Emily Aigun Liu
- 4) Allen John Lovey
- 5) John Guilfoyle Mullin, Jr.

2. Nombre y Dirección del Cesionario:

Nombre: HOFFMANN-LA ROCHE, INC.

Dirección:

Nombres de Cedentes adicionales:

Cedentes anexos ? ☐ Si ☒ No

3. Naturaleza de cesión

- ☒ Traspaso
- ☐ Fusión
- ☐ Seguros de Garantía
- ☐ Cambio Razón Social

Eduardo Calado
Eduardo Calado Saguera
"DIRECTOR GENERAL"
REG. COM. SOL. ECUA.
R. N. 11.111.111.111

76
73

☐ Otros

Fecha de celebración: Octubre 8, 1999

Octubre 11, 1999

Dirección: 340 KINGSLAND STREET

Ciudad: NUTLEY

Estado: Nueva Jersey

Código Postal: 07110

Nombres adicionales y Direcciones adjuntas: ☐ Si ☒ No

4. Número (s) de Solicitud de Patente o número(s) de patente:

Si este documento se presenta junto con una nueva solicitud, la fecha de presentación de la Solicitud es:

A. No. (s) Solicitud de Patente

B. Patente No.

No SERIAL DE SOLICITUD DE PATENTE PROVISIONAL: 60/158,860,
PRESENTADA EL 12 DE OCTUBRE DE 1999.

Se adjuntan números adicionales ? ☐ Si ☒ No

5. Nombre y dirección del Cesionario a quien se le debe enviar la correspondencia relacionada con este documento:

Nombre: GEORGE W. JOHNSTON

Edward Caludo
Edward Caludo
"TRIDENT" (TOR 01)
INGLES FEBRUARY
Res. 531

Dirección Interna:

HOFFMANN-LA ROCHE INC

PATENT LAW DEPARTMENT

340 KINGSLAND STREET

NUTLEY, NJ. 07110

6. Número total de Solicitudes y Patentes: UNA

7. Total Monto Honorarios

(37 Código de Regulaciones Federales 3.41).....\$40.00

☒ Autorización para cobro a la Cuenta Corriente.

☒ Autorización para cobro por insuficiencia de pago a la Cuenta Corriente.

8. Número de Cuenta Corriente:

08-2525

9. Declaración y Firma

Certifico de acuerdo a mi entero conocimiento y fé que la anterior información es fiel verdadera y que cualquier copia anexa es una copia del documento original.

Nombre del firmante: PATRICIA S. ROCHA-TRAMALONI

FIRMA: PATRICIA S. ROCHA-TRAMALONI

Fecha: Marzo 15, 2000

Contacto: Lou Ann Donatoni

Telefono: (973) 235-4389

Fax: (973) 235-2363

Número total de páginas incluyendo la portada, anexos y documentos: 5

Donatoni
Edna...
"TRIN..."
"SGL..."
R... 1...

78
75

TRASPASO

CONSIDERANDO QUE:

Nader, Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu, Allen John Lovey y John Guilfoyle Mullin, Jr.

(Cedentes) han inventado ciertas mejoras útiles, las cuales se describen y reivindican en la solicitud de Patentes de Los Estados Unidos e identificadas con el expediente No. 1094P, llamado:

PIRROLES SUBSTITUIDOS APTOS PARA INFUSIÓN CONTINUADA

CONSIDERANDO QUE: HOFFMANN - LA ROCHE INC, Una empresa constituida y existente bajo y por virtud de las leyes del estado de Nueva Jersey, la cual tiene sede principal de Negocios en NUTLEY, desea adquirir el interés total de dicho invento, dicha solicitud y la patente a obtenerse para la misma.

POR LO TANTO: Habiendo recibido como compensación la suma de un dólar y otras compensaciones valiosas entregadas a nosotros personalmente, y de la cual se acusa recibo y se da testimonio de su suficiencia, hemos vendido, cedido y por la presente vendemos, cedemos, entregamos a HOFFMANN LA ROCHE INC. (Cesionario) y a los representantes y sucesores legales de dicho cesionario, los derechos completos, títulos e interés a nivel mundial, sobre dicho invento y solicitud, así como también sobre cualquier solicitud posterior de patente o patente extranjera de Los Estados Unidos la fecha de

Eduardo
Eduardo Celada Varguera
-TRADICION ALIENIGNA-

79
76

prioridad de dicha solicitud, bajo cualquier ley estadounidense, convención Internacional o tratado; y por la presente autorizamos y solicitamos la expedición de dichas patentes extranjeras y nacionales de acuerdo a los términos de este convenio.

DE ACUERDO A LO ANTERIOR: Por el presente, convenimos y acordamos con el mencionado Cesionario, que no firmaremos ningún documento escrito, ni realizaremos ningún acto que pueda entrar en conflicto con el presente, y que en cualquier momento, cuando así se solicite, sin condiciones adicionales, pero por cuenta de dicho cesionario, firmaremos dichos traspasos que fueran necesarios y otros documentos para realizar los actos que dicho Cesionarios estimen necesarios o convenientes para perfeccionar el goce de dicho Cesionario de esta concesión y suministrar toda la asistencia que fuera necesaria para realizar solicitudes y para obtener patentes provisionales, originales, continuas, continuación parcial, divisorias, reexpedidas, revisadas por segunda vez o ampliadas de Los Estados Unidos o de cualquier país extranjero sobre dicho invento y en la solicitud de cualquier derecho u opción de acción que se acumule como resultado de dicha solicitud de patentes, incluyendo pero sin limitación a dar testimonio en cualquier actuación de transacciones relacionadas con dichas solicitudes de patentes y firmar declaraciones preliminares y otras declaraciones juradas, se sobre entiende que el anterior convenio y acuerdo obligará y se interpretará en beneficio de los Cesionarios y representantes legales de las partes del presente.

Edwardo Calvo
Edw. Calvo, Ciudad de México
-TRABAJA POR TI-
INGLES-ESPAÑOL-INGLÉS-
Res 541 febrero de 1966

80
77

EN TESTIMONIO DE LO ANTERIOR, yo, Alan Larson, actuando como
Secretario de Estado, he fijado el sello del Departamento de Estado el día 8
de Octubre de 1999.

Nueva Jersey, Estados Unidos

Firma: JOHN GUILFOYLE MULLIN, JR.

Eduardo Calado
Eduardo Calado
-TR 1-
BSC
Res 541

RECONOCIMIENTO

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

ESTADO DE NUEVA JERSEY

CONDADO DE ESSEX

El día 8 de Octubre de 1999, compareció ante mí personalmente:

JOHN GUILFOYLE MULLIN, JR.

reconocido como la persona descrita en el traspaso anterior, quien afirmó tener conocimiento sobre la celebración del traspaso anterior para sus propios y libres propósitos respecto al mismo.

Firma:

NELLIE A. DANZI

NOTARIO PUBLICO DE NUEVA JERSEY

Mi Comisión vence el 22 de julio del año 2000.

Eduardo Calabrese
Eduardo Calabrese
"TRADUCTOR OPORTUNISTA"
INGLES - ESPAÑOL
Rev. 4/99

EN TESTIMONIO DE LO ANTERIOR, yo, Alan Larson, actuando como Secretario de Estado, he fijado el sello del Departamento de Estado el día 8 de Octubre de 1999.

Nueva Jersey, Estados Unidos

Nader Fotouhi

Norman Kong

Emily Aijun Liu

Allen John Lovey

RECONOCIMIENTO

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

ESTADO DE NUEVA JERSEY

CONDADO DE ESSEX

El día 11 de Octubre de 1999, comparecieron ante mi personalmente:

Nader Fotouhi, Norman Kong , Emily Aijun Liu , Allen John Lovey

reconocidos como las personas descritas en el traspaso anterior, quienes afirmaron tener conocimiento sobre la celebración del traspaso anterior para sus propios y libres propósitos respecto al mismo.

Edwards
Eduardo Calvo
-TRANSCRIPCIÓN DE LA
INGLES - ENGLISH
Rev. 11/11/99

83
80

Firma:

LOU ANN DONATONI

NOTARIO PUBLICO DE NUEVA JERSEY

Mi Comisión vence el 26 de Marzo del año 2003.

Eduardo Calabrese
Eduardo Calabrese
"TRADUCCION DE LA LEY"
INGLES AL CASTELLANO
Rev 541 Febrero 2, 1994



**CONSULADO DE COLOMBIA
WASHINGTON, D.C.**



81

No. 1805

**EL CONSULADO DE COLOMBIA
CERTIFICA:**

Que es auténtica la firma de PATRICK O. HATCHETT.
quien el día 14 DE JULIO DEL 2000
desempeñaba las funciones de OFICIAL DE AUTENTICACIONES DEPARTAMENTO DE ESTADO.
la cual aparece al pie de los documentos anexos relacionados con CERTIFICADO.

Dado en Washington, D.C. a los DIECIOCHO (18) días del mes de
JULIO. del año dos mil (2000)

Pagado Impuesto de Timbre 75

Pagado Derecho Consular 15

Total 90

(El Consulado no asume ninguna
responsabilidad por el contenido de los
documentos anexos)


JAQUELINE ESPITIA ARIAS
Vicecónsul

ii DE RIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Bequeline
34-73

Esptier
CUNA QUEMADA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 SEP 21 P 2:42

Mojana
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

00041287-7
United States of America

JOSE LLORENTE

CASO

20.500

82



DEPARTMENT OF STATE

To all to whom these presents shall come, Greetings:

I Certify That the document hereunto annexed is under the Seal of the Patent and Trademark Office, Department of Commerce, United States of America, and that such Seal is entitled to full faith and credit.*

In testimony whereof, I, Alan Larson, Acting Secretary of State, have hereunto caused the seal of the Department of State to be affixed and my name subscribed by the Assistant Authentication Officer, of the said Department, at the city of Washington, in the District of Columbia, this fourteenth day of July, 2000.

Alan Larson
Acting Secretary of State
By Paul D. Mansueti
Assistant Authentication Officer,
Department of State

Issued pursuant to CHXIV, State of
Sept. 15, 1789, 1 Stat. 68-69; 22
USC 2657; 22 USC 2651e; 5 USC
301; 28 USC 1733 et. seq.; 8 USC
1443(f); RULE 44 Federal Rules of
Civil Procedure.

*For the contents of the annexed document, the Department assumes no responsibility

This certificate is not valid if it is removed or altered in any way whatsoever

CO/0m917

85
53

A 271888

THE UNITED STATES OF AMERICA

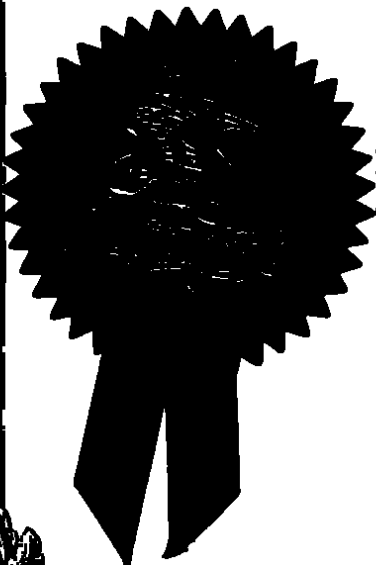
TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

**UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office**

July 11, 2000

**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED IS A TRUE COPY FROM THE
RECORDS OF THIS OFFICE OF A DOCUMENT RECORDED ON
March 20, 2000.**

**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**



L. Edelen

**L. EDELEN
Certifying Officer**

04-26-2000



101336468

18ET

Case Docket No. 1094P

To the Honorable Commissioner of Patents and Trademarks: Please record the attached original documents or copy thereof.

1. Name of conveying party(ies):

- 1) Nader Fotouhi
- 2) Norman Kong
- 3) Emily Aigun Liu
- 4) Allen John Lovey
- 5) John Guilfoyle Mallin, Jr.

2. Name and address of receiving party(ies):

Name: HOFFMANN-LA ROCHE INC.

Internal Address: _____

Additional name(s) of conveying

party(ies) attached? ☐ Yes ☒ No

3. Nature of conveyance:

☒ Assignment

☐ Merger

Street Address: 340 KINGSLAND STREET

☐ Security Agreement

☐ Change of Name

☐ Other

City: NUTLEY State: NJ Zip: 07110

Execution Date: 5) OCTOBER 8, 1999
OCTOBER 11, 1999

Additional name(s) & address(es) attached:
☐ Yes ☒ No

4. Application number(s) or patent number(s):

If this document is being filed together with a new application, the execution date of the application is:

A. Patent Application No.(s)

B. Patent No.(s)

U.S. PROVISIONAL APPLN. SER. NO.: 60/158,860, FILED: OCTOBER 12, 1999

Additional numbers attached? ☐ Yes ☒ No

04/25/2000 TTON11 00000186 002525 60138860
0: FC:581 40.00 CH

REEL 010718 FRAME 0976

88
85

5. Name and address of party to whom correspondence concerning document should be mailed:

6. Total number of applications and patents involved: ONE

Name: GEORGE W. JOHNSTON

Internal Address:

7. Total fee (37 CFR 3.41).....\$ 40.00

HOFFMANN-LA ROCHE INC.

☒ Authorized to be charged to deposit account

PATENT LAW DEPARTMENT

☒ Authorized any deficiencies to be charged to deposit account

Street address: 340 KINGSLAND STREET

8. Deposit account number:

08-2525

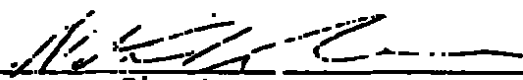
City: MUTLEY State: NJ Zip: 07110

DO NOT USE THIS SPACE

9. Statement and signature.

To the best of my knowledge and belief, the foregoing information is true and correct and any attached copy is a true copy of the original document.

PATRICIA S. ROCHA-TRAMALONI
Name of Person Signing


Signature

MARCH 15, 2000
Date

CONTACT: Lou Ann Donatoni
TELEPHONE: (973) 235-4389
FAX: (973) 235-2363

Total number of pages including cover sheet, attachments and document: 5

REEL 010718 FRAME 0977

89
86ASSIGNMENT

WHEREAS WE,

Nader Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu, Allen John Lovey, and John Guilfoyle Mullin, Jr.

(Assignors) have invented certain new and useful improvements which are described and claimed in application for United States Patent and identified as Case Docket No. 1094P, entitled

SUBSTITUTED PYRROLES SUITABLE FOR CONTINUOUS INFUSION

WHEREAS, HOFFMANN-LA ROCHE INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of New Jersey, and having its principal place of business at Nutley, New Jersey, is desirous of acquiring the entire interest in and to said invention, said application and the Patent to be obtained therefor;

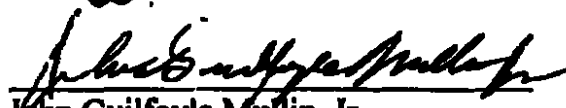
NOW, THEREFORE, for and in consideration of One Dollar (\$1.00) and other good and valuable consideration to us in hand paid, the receipt and sufficiency whereof are hereby acknowledged, we have sold, assigned, and set over, and by these presents do hereby sell, assign, and set over unto the said HOFFMANN-LA ROCHE INC. (Assignee), and said Assignee's legal representatives, successors, the entire right, title and interest, for the whole world, in and to said invention and said application, as well as any subsequent application which claims priority based upon the filing date of said application identified as Case Docket No. 1094P and the patents, both domestic and foreign, that may or shall result therefrom including the right to claim in respect of any subsequent United States and foreign patent applications and patents, the priority date of said application under any United States statute and international convention or treaty; and we do hereby authorize and request the issuance of said patents, domestic and foreign, conformably to the terms of this Agreement.

UPON SAID CONSIDERATION, we do hereby covenant and agree with the said Assignee that we will not execute any writing or do any act whatsoever conflicting with these presents, and that we will at any time upon request, without further or additional consideration, but at the expense of the said Assignee, execute such additional assignments and other writings and do such additional acts as said Assignee may deem necessary or desirable to perfect the Assignee's enjoyment of this invention, and render all necessary assistance in making application for and obtaining provisional, original, continuation, continuation-in-part, divisional, reissued, re-examined or extended Patent of the United States or of any and all foreign countries on said invention, and in enforcing any rights or choses in action accruing as a result of such applications or patents, including but not limited to, giving testimony in any proceedings or transactions involving such applications or patents, and executing preliminary statements and other affidavits, it being understood that the foregoing covenant and agreement shall bind and inure to the benefit of the assigns and legal representatives of all parties hereto.

REEL 010718 FRAME 0978

IN WITNESS WHEREOF, we have hereunto set our hands and affixed our seals this 8th
of October, 1999.

New Jersey, U.S.A.


John Guilfoyle Mullin, Jr.

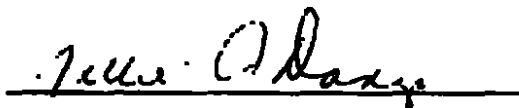
ACKNOWLEDGMENT

United States of America)
State of New Jersey)
County of Essex)

On October 8, 1999, before me personally appeared

John Guilfoyle Mullin, Jr.

to me known to be the persons described in the foregoing Assignment, who acknowledged that they
executed the foregoing Assignment of their own free will for the purposes therein set forth.



NELLIE A. DANZI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires July 22, 2000

89374

IN WITNESS WHEREOF, we have hereunto set our hands and affixed our seals this 11th
October, 1999.

N.L. New Jersey, U.S.A.

Nader Fotouhi
Nader Fotouhi

Norman Kong
Norman Kong

Emily Aijun Liu
Emily Aijun Liu

Allen John Lovey
Allen John Lovey

ACKNOWLEDGMENT

United States of America)
State of New Jersey)
County of Essex)

On October 11, 1999, before me personally appeared

Nader Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu, and Allen John Lovey

to me known to be the persons described in the foregoing Assignment, who acknowledged that they
executed the foregoing Assignment of their own free will for the purposes therein set forth.

Lou Ann Donatoni

LOU ANN DONATONI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires March 26, 2003

89374

MAR 20 00

TRADEMARK
OFFICE

REEL 010718 FRAME 0980

Septiembre 22, 2000
Traducción Oficial No. 0297
REF: F. HOFFMANN - LAROCHE AG

COLOMBIA
CASO No. 20500
EXPEDIENTE No. 1094P

93
F. Hoffmann-Laroché
20500
84

Certificación expedida por el Consulado General de Colombia en Nueva York, Estados Unidos, en la fecha de Junio 21 del año 2000 con firma del señor Cónsul de Colombia José David Name C.

Hay sello del Consulado de Colombia en la ciudad de Nueva York, Estados Unidos de América.

Sellos de Legalización: Ministerio de Relaciones Exteriores, No. 341674, Firma el Señor Cónsul de Colombia, Dr. José D. Name C.

Sellos de Legalización: Ministerio de Relaciones Exteriores, fecha Septiembre 21 del año 2000, Hora: 2:43, Firma Jefe de Legalizaciones de Santafé de Bogotá, D. C. Firma ilegible.

TRASPASO

HOFFMANN-LA ROCHE INC. (CEDENTES), Una empresa de Estado de Nueva Jersey, de los Estados Unidos de América, la cual tiene su sede principal de negocios en Nutley, Nueva Jersey, Estados Unidos de América, por el presente traspasa a:

HOFFMANN - LA ROCHE AG (Cesionario)

124 Grenzacherstrasse, CH-4070 Basilea, Suiza

Todos sus derechos, títulos e interés, en todos los países a nivel mundial a excepción de los Estados Unidos, territorios y posesiones, sobre el invento descrito y reivindicado en una solicitud para patentes de los Estados Unidos, Expediente No. 1094P, presentada en Octubre 12, 1999, cuyo título es:

Eduardo
Edgar
"TRASPASO"
R-471-67
R-471-67
R-471-67

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

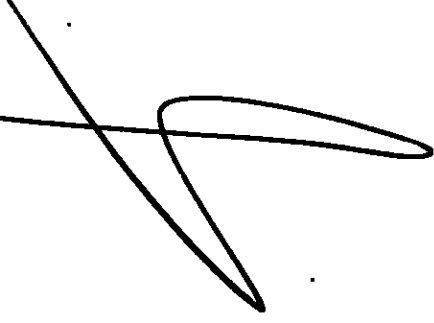
34438

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DE SEMPEÑA
LAS FURCHONES INDICADAS.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 SEP 27 P 2:46

JEFE DE LEGALIZACIONES
-SANTAFE DE BOGOTA D.C.



PIRROLES SUBSTITUIDOS APTOS PARA INFUSIÓN CONTINUA

Por: Nader Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu, Allen John Lovey y John Guilfoyle Mullin, Jr..

Así como también, sobre cualquier otra solicitud posterior en todos los países del mundo, a excepción de los Estados Unidos de América, territorios y posesiones, las cuales reclamen esta solicitud, Expediente No. 1094P, como prioridad; y con respecto a dicho invento y todas las mencionadas solicitudes de patentes extranjeras o nacionales sobre dicha invención, sobre la cual se firma el traspaso el 8 de Octubre de 1999, por parte de John Guilfoyle Mullin, Jr. y un traspaso de todos los derechos, títulos e interés a nivel mundial, en favor del Cedente, fue firmado el 11 de agosto de 1999, por Nader Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu y Allen John Lovey.

Ese traspaso es para, pero no se limita a, los siguientes países y se hace a cambio de una contraprestación válida, de la cual se acusa recibo y se da testimonio de su suficiencia.

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhsan, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Paises Bajos, Nueva Zelandia, Noruega, Paquistán, República de la Gente de China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur África, España, Suecia, Suiza, Taiwan, Reino Unido de Gran Bretaña y Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, Venezuela,

El Cedente expresamente traspasa al cesionario el derecho a presentar solicitudes de patentes correspondientes en todos los países a nivel mundial con excepción de Estados

Eduardo Celado
Eduardo Celado
"TRAFICANTE DE DROGAS"

95
91

Unidos de América y reivindicar fecha de prioridad bajo cualquier tratado o convenio internacional con respecto a cualquiera de las solicitudes de patente (s), cedidas por el Cedente de acuerdo con este traspaso. El Cedente, acuerda firmar cualquier traspaso adicional y documentos escritos, así como también realizar cualquier acto necesario adicional para permitir que el Cesionario disfrute de todos los derechos del presente traspaso.

Nutley, Nueva Jersey, U.S.A.

Fecha: Octubre 26, 1999

Firma: William H Epstein

Asistente Secretario

Hay firma del asistente Secretario: Dr. William H. Epstein

RECONOCIMIENTO

El día 26 de octubre de 1999, compareció personalmente WILLIAM H. EPSTEIN, conocido por mí como la persona descrita en el traspaso anterior, quien reconoció haber firmado el traspaso anterior a nombre de HOFFMANN-LA ROCHE INC., y que el o ella está facultado para firmar el traspaso anterior y ceder los derechos otorgados con dicho traspaso.

LOU ANN DONATONI

Notario Público de Nueva Jersey

Mi Comisión vence, Marzo 26, 2003

Edmundo Calado
Edmundo Calado, Notario
PÚBLICO DE NUEVA JERSEY
MAY 26 2003

96
92

DECLARACIÓN

El Cedente anteriormente mencionado, quien a través del abogado del Cedente de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos de América, me ha informado que la Oficina de Marcas y Patentes, ha otorgado el Número de Serie: 60/158,860 y la fecha de presentación, octubre 12 de 1999, a la solicitud de patente, indentificado como expediente No. 10-94P del traspaso anterior.

El Cedente además declara que el 26 de octubre de 1999, su representante legal firmó el traspaso anterior y que en esa fecha el Cesionario traspasó a F. Hoffmann-La Roche AG, los derechos a reivindicarla fecha de prioridad de la solicitud de patente de los Estado Unidos, arriba mencionada con respecto a cualquier solicitud de patente extranjera posteriormente mencionada.

HOFFMANN-LA ROCHE INC.
Firma: William H. Epstein
Secretario Asistente

Nutley, Nueva Jersey, USA
Date: Octubre 26, 1999

Estados Unidos de América)
Estado de Nueva Jersey)
Condado de Essex)

Eduardo Calado
Eduardo Calado
"TRAPICADOR DE LA VIDA"
INGLES - EN ESPAÑOL
1999

93
93

RECONOCIMIENTO

El día 26 de octubre de 1999, compareció personalmente WILLIAM H. EPSTEIN, conocido por mí como la persona descrita en el traspaso anterior, quien reconoció haber firmado el traspaso anterior a nombre de HOFFMANN-LA ROCHE INC., y que el o ella está facultado para firmar el traspaso anterior y ceder los derechos otorgados con dicho traspaso.

LOU ANN DONATONI

Notario Público de Nueva Jersey

Mi Comisión vence, Marzo 26, 2003

Edmundo Calado
Edmundo Calado
"TRAPASO DE BIENES"
INCL. FOLIO 100
Rev. 4/99

98
94

Yo, Tesorero de Estado Nueva Jersey, por la presente certifico que:

LOU ANN DONATONI

El funcionario cuyo nombre aparece en este certificado de reconocimiento, prueba y declaración Jurada adjunta al documento anexo, prueba y declaración juramentada, era en la fecha de tomar dicho reconocimiento, prueba y declaración juramentada, Notario Público, para el Estado de Nueva Jersey debidamente nombrado y juramentado y era como tal un funcionario de dicho estado, debidamente autorizado por las leyes del mismo, para tomar y certificar la prueba y reconocimientos y escrituras y otros documentos escritos que vayan a registrarse en dicho estado y que sus actos oficiales merecen plena fe y crédito.

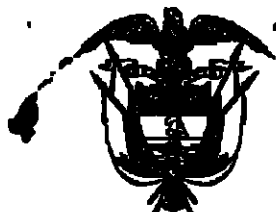
En testimonio de lo anterior, he firmado y fijado mi sello oficial en Trenton hoy día 14 de Junio del año 2000.

Hay firma del Dr. Roland M Machold

TESORERO

Hay sello del estado de Nueva Jersey

Edw. Machold
EDWARD MACHOLD
TREASURER
STATE OF NEW JERSEY
JUN 14 2000



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

10 EAST 46TH STREET, NUEVA YORK, NY 10017

TEL. (212) 370-0004 FAX (212) 972-1725

F. Hoffmann⁹⁴
CAD: 20'500
95

EL SUSCRITO CONSUL DE COLOMBIA JUN 21 2000

VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA

Que el Señor (a), **ROLAND M MACHOLDS** Tesorero del Estado de New Jersey verificó la firma de (el) (la) señor(a) **LOU ANN DONATONI** como Notario publico para el estado de New Jersey y que la firma y sello que aparecen en el documento adjunto son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales.

Que la Notario(a) arriba mencionado(a) verificó las firma del señor(a) **WILLIAM H EPSTEIN** quien firma el documento adjunto en su calidad de SECRETARIO de **HOFFMANN-LA ROCHE INC.** Corporación organizada, legalmente y existente de conformidad con las leyes de Los Estados Unidos de Norte América..

Que ha tenido a la vista los documentos probatorios de los hechos citados y constatados por el Tesorero del Estado de New Jersey, y la notario pública del mismo estado, los cuales forman parte integral del precedente documento.

Se expide la presente certificación en cumplimiento de los artículos 259 del Código de Procedimiento Civil y 480 del Código de Comercio y a solicitud del interesado a los 21 días del mes de junio del 2000.

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD POR EL CONTENIDO DEL DOCUMENTO ADJUNTO.

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES

VALOR CINCUENTA Y SIETE DOLARES US\$57.00 RECIBO No.

244944



[Firma manuscrita]
Jose David Neme C.
Cónsul de Colombia

RELACIONES

SECRETARIA

31-1-74

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2800 SEP 21 P 2:43

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.





ASSIGNMENT

HOFFMANN-LA ROCHE INC. (Assignor), a corporation of the State of New Jersey, United States of America, having its principal place of business at Nutley, New Jersey, United States of America, hereby assigns to

F.HOFFMANN-LA ROCHE AG (Assignee)
124 Grenzacherstrasse, CH-4070 Basle, Switzerland

all of its right, title and interest for all countries of the world except the United States of America and its territories and possessions, in and to the invention described and claimed in an application for United States Patent, Case Docket No. 1094P, filed on October 12, 1999, entitled

SUBSTITUTED PYRROLES SUITABLE FOR CONTINUOUS INFUSION

by Nader Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu, Allen John Lovey and John Guilfoyle Mullin, Jr.

as well as in any subsequent application(s) in all countries of the world, except the United States of America and its territories and possessions, which subsequent application(s) claims this application, Case Docket No. 1094P, as priority; and in respect of which invention and all such patent applications, domestic and foreign, on said invention, an assignment of all right, title and interest therein, for the whole world, in favor of Assignor was executed on October 8, 1999 by John Guilfoyle Mullin, Jr. and an assignment of all right, title and interest therein, for the whole world, in favor of Assignor was executed on October 11, 1999 by Nader Fotouhi, Norman Kong, Emily Aijun Liu and Allen John Lovey.

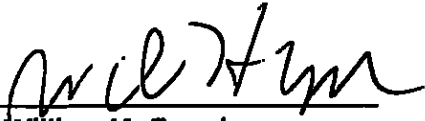
The present assignment is for, but is not limited to, the following countries and is for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, Venezuela.

Assignor expressly assigns to Assignee the right to file corresponding patent applications in all countries of the world except the United States of America and to claim the priority date under any international treaty or convention of any of the above U.S. patent application(s) assigned by Assignor in this present Assignment. Assignor agrees to execute any additional assignments and writings as well as to perform any additional acts necessary to enable Assignee to enjoy the full rights of the present Assignment.

Nutley, New Jersey, U.S.A.
Date: October 26, 1999

HOFFMANN-LA ROCHE INC.

By: 

William H. Epstein
Assistant Secretary



ACKNOWLEDGMENT

PT
97

On October 26, 1999, before me personally appeared William H. Epstein to me known to be the person described in the foregoing Assignment, who acknowledged that (s)he executed the foregoing Assignment on behalf of Hoffmann-La Roche Inc., and that (s)he is empowered to execute the foregoing Assignment and to convey the rights granted thereunder.

Lou Ann Donatoni

LOU ANN DONATONI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires March 26, 2003

STATEMENT

The aforementioned Assignor states that through Assignor's attorneys, the U.S. Patent and Trademark Office has informed me that that Office has given Serial Number 60/158,860 and filing date of October 12, 1999 to the United States patent application referred to as Case Docket No. 1094P in the foregoing Assignment.

Assignor further states that on October 26, 1999, its representative executed the foregoing Assignment and on that date Assignor did assign to F.Hoffmann-La Roche AG the right to claim the priority date of the above-mentioned U.S. patent application in respect of any subsequent corresponding foreign application and patents.

HOFFMANN-LA ROCHE INC.

By: William H. Epstein
William H. Epstein
Assistant Secretary

Nutley, New Jersey, U.S.A.
Date: October 26, 1999

ACKNOWLEDGMENT

United States of America)
State of New Jersey)
County of Essex)

On October 26, 1999, before me personally appeared William H. Epstein, to me known to be the person described in the foregoing Assignment, who acknowledged that (s)he executed the foregoing Assignment on behalf of Hoffmann-La Roche Inc., and that (s)he is empowered to execute the foregoing Assignment and to convey the rights granted thereunder.

Lou Ann Donatoni

LOU ANN DONATONI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires March 26, 2003

55386

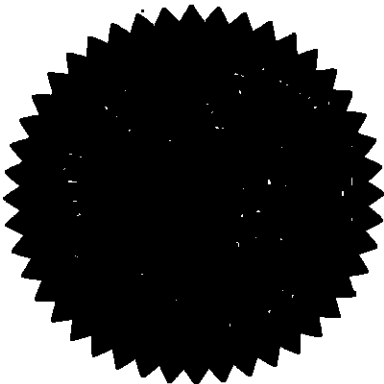
122
98

THE TREASURER OF THE STATE OF NEW JERSEY, DO HEREBY
CERTIFY THAT

LOU ANN DONATONI

THE OFFICER WHOSE NAME IS SUBSCRIBED TO THE CERTIFICATE
OF ACKNOWLEDGEMENT, PROOF OR AFFIDAVIT ATTACHED TO THE
ANNEXED INSTRUMENT, WAS AT THE TIME OF TAKING SAID
ACKNOWLEDGEMENT, PROOF OR AFFIDAVIT A NOTARY PUBLIC,
IN AND FOR THE STATE OF NEW JERSEY, DULY COMMISSIONED
AND SWORN AND WAS, AS SUCH, AN OFFICER OF SAID STATE,
DULY AUTHORIZED BY THE LAWS THEREOF TO TAKE AND
CERTIFY THE SAME, AS WELL AS TO TAKE AND CERTIFY THE
PROOF AND ACKNOWLEDGEMENT OF DEEDS AND OTHER INSTRUMENTS
IN WRITING TO BE RECORDED IN SAID STATE, AND THAT FULL
FAITH AND CREDIT ARE AND OUGHT TO BE GIVEN TO HIS OFFICIAL
ACTS.

IN TESTIMONY WHEREOF, I HAVE
HEREUNTO SET MY HAND AND AFFIXED
MY OFFICIAL SEAL AT TRENTON, THIS
14TH DAY OF JUNE
A.D. 2000.



Roland M Machold

Roland M Machold
TREASURER

103
94

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- Nombre e identificación del Solicitante (C1)
- Nombre e identificación del Inventor (C1)
- Título o nombre de la Invención (C1)
- Descripción (C6)
- Reivindicaciones (C6)
- Resumen (C5)
- Comprobante de Pago (C2)

- ☒
- ☒
- ☒
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐

COMPLETA ☒

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Nombre e identificación del peticionario
- Nombre e identificación del Inventor o diseñador
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse
- Representación gráfica
- Comprobante de pago

- ☐
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha: Radicación : 00076949 00000000 Folios: 102
Fecha (RD): 2008-10-10 16:05:23
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia



INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 00-76949

Fecha: 11 de octubre del 2000.

Se certifica que:

Desde fecha 22 de junio de 1994 ,
del folio 76.618 **al folio** 76.623 **del**
libro de Protocolo NQ 259 , **obra el poder**
NQ 15.256 **conferido por** F. HOFFMANN
LA ROCHK A.G.

domiciliado(a) en Basilea - Suiza

al doctor JOSE LLORED A CAMACHO y/o
ALFONSO LLORED A CAMACHO y/o JOSE ANTONIO
LLORED A

Representante en Santafé de Bogotá D.C. Los
mismos

Facultad para desistir SI .

Revisado 202022 .



101

Industria y Comercio**SUPERINTENDENCIA****SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

2020
Bogotá, D.C.

Doctor
JOSE ANTONIO LLOREDA
Representante

REFERENCIA:	Radicación No.	00076949
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0241
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante. (Art.26-k).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 06 FEB. 2001.

Se recuerda al interesado que debe presentar, dentro de los dieciséis meses siguientes contados a partir de la fecha de presentación de la solicitud cuya prioridad se invoca, copia de la misma certificada por la autoridad que la expidió, un certificado de la fecha de presentación de esa solicitud expedida por la misma autoridad y, en los casos en que haya lugar, la traducción simple del capítulo reivindicatorio. El incumplimiento de este plazo, acarreará la pérdida de la prioridad invocada.

C.T./C.J. _____/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia