



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION
PCT

21. EXPEDIENTE N°

03-68410

54. TÍTULO "4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida y su uso como producto farmacéutico"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 31/66

71. SOLICITANTE Aventis Pharma Deutschland GmbH

DOMICILIO Frankfurt am Main, Alemania

74. APODERADO Luis Patiño Leyva
Gustavo Hellmann Restrepo

22. BOGOTÁ, D. C. 11 de agosto de 2003

GP

GS

PETITORIO


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

03 068410 00

Radicación : 03068410 00000000
Fecha (AMB) : 2002-06-11 14:31:10
Tramite : 011 PCT-PATENT 279 FASE NUCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2009 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 49

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE :

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ Capítulo I.

☒ Capítulo II.

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH**

Dirección: **Brüningstrasse 50
65926 Frankfurt am Main, Alemania**

Nacionalidad o Domicilio: **Frankfurt am Main,
Alemania**

Lugar de Constitución: **Alemania**

Teléfono: Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO**

Dirección: **Cra. 11A No. 94-76-Of. 403**

Teléfono: **6161948** Fax: **6163976**

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☒

Cual _____

Número **2.878.023** TP **5903**

④

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: **WOHLFART, Paulus** ✓

Dirección: **Bertolt-Brecht-Ring 16c,**

Nacionalidad o Domicilio **64625 Bensheim, Alemania**

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/EP02/01443**

Fecha **Febrero 12 de 2002**

Publicación Internacional No. **WO 02/064146 A1**

Fecha **Agosto 22 de 2002**

⑥

Título (54) **"4-FLUORO-N-INDAN-2-IL-BENZAMIDA Y SU USO COMO PRODUCTO FARMACEUTICO".**

⑦

Clasificación Internacional (51) **A61K 31/66**

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

Europa

(32) Fecha

Febrero 13, 2001

(31) Número de Solicitud

01102852.9

⑨

Comprobante de pago No. **51,724**

Fecha **Julio 24 de 2003**

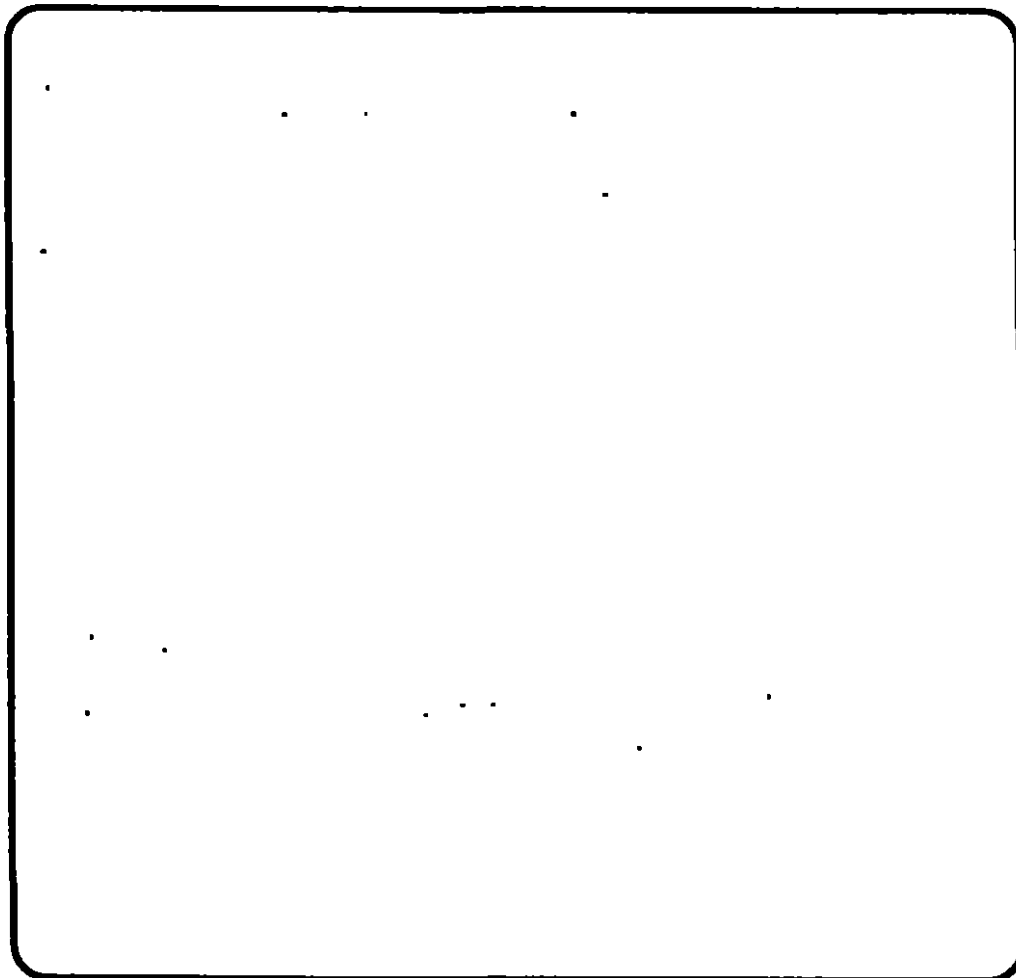
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☒ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros **Reporte de Búsqueda Internacional.**

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

FIRMA:

C.C. 2.878.023 B/té. TP. 5903

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

2

**Continuación enumeración del nombre de los Inventores, con
Su correspondiente dirección, código postal y domicilio:**

<u>Nombre</u>	<u>Dirección</u>	<u>Domicilio</u>
SUZUKI, Teri ✓	1509 N. Blacklawn Ave.,	Tucson, AZ 85745 Estados Unidos
DHARANIPRAGADA, Ramalinga, M. ✓	805 Taggart Dr, Belle Mead,	NJ 08502-6413 Estados Unidos
SAFAROVA, Alena ✓	12431 N. Forest Lake Way,	Tucson, AZ 85737 Estados Unidos
WALTER, Armin ✓	5900 N. Camino Miraval,	Tucson, AZ 85718 Estados Unidos
STROBEL, Hartmut ✓	Erlenweg 22,	65835 Liederbach, Alemania

Otros anexos que se acompañan a la solicitud.

Copia del juego de Reivindicaciones modificadas.

Copia del formulario de solicitud PCT (Formulario PCT/RO/101

Copia del Examen Preliminar Internacional (Forma PCT/IPEA/409)

4

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 03060410 00000000
Fecha (AMD): 2003-08-11 14:31:10
Folios: 49
Tracite : 011 PCT-PATENT 379 FREE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 51,724
FECHA : JULIO 24 DE 2003

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
GUSTAVO HOLLMAN	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	030-00110-6	13226021	24/07/2003	5,873,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 30005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	400,000.00
	TOTAL :	400,000.00

SON: CUATROCIENTOS MIL PESOS

Ref. 54910

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

H LLMANN RESTREPO

ABOGADOS LTDA.

PARA PATENTES, MARCAS Y LICENCIAS FARMACEUTICAS FOR PATENTS, TRADE MARKS AND PHARMACEUTICAL LICENSES

The undersigned

Dr. Markus Jacobi
Dr. Hans-Jürgen Fischer

acting on behalf of and representing

Company's
Name

Aventis Pharma
Deutschland GmbH

Company's
Domicile

domiciled in
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

hereby appoint/s

G. Hollmann Restrepo

Leave blank

domiciled in Bogotá, Republic of Colombia.

as our true and legal attorneys with the necessary powers; 1) to apply to the administrative, judicial and police authorities of the Republic of Colombia, in any instance or appeal, for obtaining letter patents, industrial designs and models, trademark registrations, registration of commercial names as well as their assignments, extensions, renewals and changes of name; 2) to prepare, apply for, obtain, execute and register contracts, licenses, authorizations and registrations of any kind; 3) intervene as plaintiffs or defendants, in any instance or appeal, before any judge, court, tribunal, corporation, public offices or authority in any judicial, administrative or police action, such as: actions dealing with commercial names; oppositions against trademark registrations; caducity and nullity actions; recovery actions, actions arising from obtainment and exploitations of licenses; actions dealing with unfair competition; criminal actions; actions claiming indemnity for damages; claims or remarks on patent applications, industrial designs and models; the performance of precautionary measures, and in any other similar action, measures or appeals related to industrial property matters.

To this effect, I (we) hereby authorize him (them) to file applications, make descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, appeals and claims; to pay taxes, quotas and liens as provided by law; to waive or abandon granted rights or rights in process of being granted, to receive all kind of documents and securities; to issue the respective releases and, in general, to take, before said authorities, pertinent steps to the above mentioned purposes and take all measures he (they) may deem convenient to protect my (our) interests, with all other necessary legal faculties, and I (we) hereby declare as good and valid whatever the attorneys should do to my (our) benefit.

This power comprises the authority to ratify or confirm on my (our) behalf any actions, as well as the faculty of receiving, drafting, transacting, compromising, substituting and revoking substitutions, taking notifications and appointing judicial or extrajudicial attorneys.

Signed in Frankfurt..am Main

On this 11th day of February 2000

(Dr. Markus Jacobi)
- Prokurist -

Signature(s)
Firma(s)

Yo(nosotros)

Dr. Markus Jacobi y
Dr. Hans-Jürgen Fischer

obrando a nombre y representación de

AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH

con domicilio en

Frankfurt am Main, Alemania

nombre(nombres) a

GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

domiciliado(s) en Bogotá, República de Colombia, en la Cra. 11A No. 94-76 - Of. 308.

apoderados verdaderos y legítimos con poder especial amplio y suficiente: 1) Para recibir de las oficinas y autoridades colombianas, administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, de dibujos y modelos industriales, registro de marcas, depósito de nombres comerciales y marcas, así como sus traslados, prórrogas, renovaciones y cambios de nombre; 2) elaborar, tramitar, solicitar, obtener, realizar, ejecutar y registrar contratos, licencias, autorizaciones y registros de cualesquiera clases; 3) intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso y ante cualquier juez, entidad, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía, tales como acciones derivadas del nombre comercial, oposición al registro de marcas; acciones de caducidad y nulidad; acciones reivindicatorias; acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales y civiles; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos u observaciones a solicitudes de patentes, modelos y dibujos industriales; en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones, medidas o recursos similares relacionados con la propiedad industrial.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistír a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que originen conducentes a la salvaguarda de mis (nuestros) intereses, con todas las demás facultades necesarias, y por este documento declaro que lo(s) faculto(amos) válido y bueno todo cuanto los apoderado(s) hicieren en mi (nuestro) beneficio.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi(nuestro) nombre lo actuado, así como la facultad de desistír, transigir, comprometer, substituir y revocar substituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Firmado en Frankfurt am Main

el 11 de Febrero

de 2000

(Dr. Hans-Jürgen Fischer)
- Authorized Signatory -

CONSULAR CERTIFICATION

COMPANIES

The undersigned Consul certifies: that the preceding signature(s) reading

Dr. Markus Jacobi
Dr. Hans-Jürgen Fischer

is (are) authentic; that the signer(s) at present fills (fill) the position of

Prokurist
Authorized Signatory

of Aventis Pharma Deutschland GmbH

that he (they) is (are) empowered to grant this power;
and that said company exists and is organized in
D-65926 Frankfurt am Main
Fed. Rep. of Germany
in accordance with the laws of

Fed. Rep. of Germany

All the foregoing facts are known to the Consul due to his having examined the respective documents to which he, the Consul, attests.

Signed in

Frankfurt am Main

On this day of

CERTIFICACION CONSULAR

SOCIEDADES

El infrascrito Cónsul certifica: que la(s) firma(s) que antecede(n) y dice(n)

es(son) auténtica(s); que el(los) signatario(s) desempeña(n) actualmente el(los) cargo(s) de

de

que tiene(n) facultad para otorgar este poder; y que dicha compañía existe y está organizada en

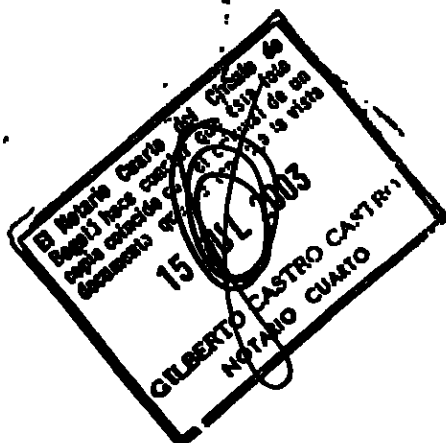
conforme a las leyes de

Todos los hechos anteriores le constan, por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Firmado en

El de

de 19



It is officially certified
hereby that

Die umstehenden heute vor
mir anerkannten Unterschriften
der

1. Dr. Markus Jacobi, D-60385 Frankfurt am Main
2. Dr. Hans-Jürgen Fischer, D-64297 Darmstadt

- personally known to me -
have signed this document.

- persönlich bekannt -
werden hiermit beglaubigt.

At the same time it is
confirmed, that the person
mentioned sub 1. according
to the Commercial Register
which has been inspected
by the Notary Public today
as Prokurist is entitled
to jointly with an other
authorized person sign for
and represent in legally
binding manner the

Gleichzeitig wird bestätigt,
daß die zu 1. genannte
Person laut Eintragung im
Handelsregister, das vom
Notar heute eingesehen
wurde, als Prokurist mit
einem anderen Zeichnungsbe-
rechtigten zeichnungs- und
vertretungsberechtigt ist
für die

Aventis Pharma Deutschland GmbH, D-65926 Frankfurt am Main

and the person mentioned
sub 2. is authorized accor-
ding to the Authorization
of June 2, 1997 to act as
proxy and to represent
said company in legally
binding manner together
with an other authorized
person of this company.

und der zu 2. Genannte
aufgrund der vorliegenden
Handlungsvollmacht vom
2. Juni 1997 handlungsbevollmäch-
tigt und zugleich mit einem
anderen Zeichnungsberechtig-
ten der Firma zur Ver-
tretung dieser Firma berech-
tigt ist.

Frankfurt am Main, den 11. Februar 2000

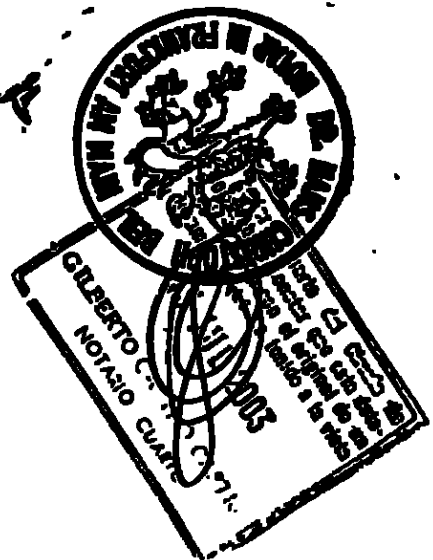
Notary Public
Notar

Kostenberechnung

Geschäftswert: DM 10.000,--
Gebühr §§ 141, 32, 45 KostO
Gebühr § 150 I KostO
16% Mehrwertsteuer

DM 20,--
DM 20,--
DM 6,40
DM 46,40

Notar



Die Echtheit vorstehender Unterschrift des
Notars Dr. Hans Christoph Reil
und die Echtheit des beige gedruckten Dienst-
stempels wird hiermit bestätigt.
Zugleich wird bescheinigt, daß der Vor-
genannte zur Vornahme der Amtshandlung
befugt war.

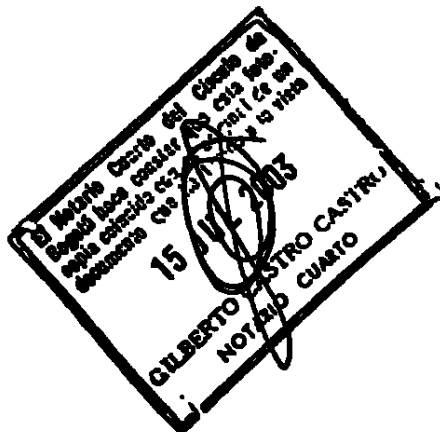
Frankfurt am Main, den 27. 1. 03

DER PRÄSIDENT DES LANDGERICHTS

In Vertretung



Schlitz





CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

Fürstenberger Str. 223, 60323 Frankfurt am Main, R.F.A.
Teléfono: 49-69-5963050 * Fax: 49-69-5963060

0139

LA SUSCRITA VICE-CONSUL DE COLOMBIA EN FRANKFURT AM MAIN

CERTIFICA

Que el señor Schlitz ejercía las funciones de Representante del Presidente del Tribunal Regional en Frankfurt am Main en la fecha indicada y su firma corresponde a la registrada en esta Oficina Consular.

Que la empresa Aventis Pharma Deutschland GmbH con sede en Frankfurt am Main, es una sociedad constituida de acuerdo con las leyes de la República Federal de Alemania y cumple su objeto conforme a las mismas.

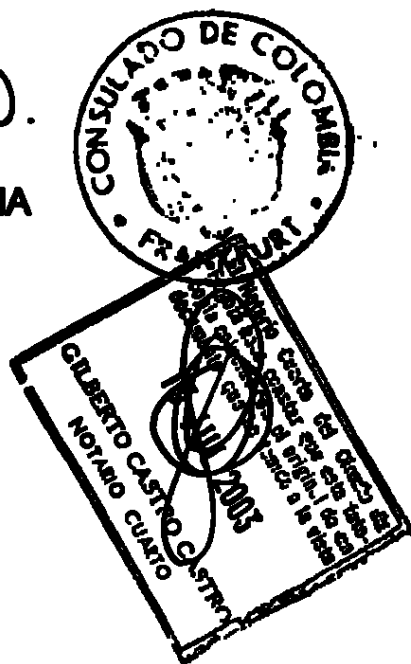
Que los señores Dr. Markus Jacobi y Dr. Hans-Jürgen Fischer, quienes en su calidad de apoderados, y cuyas firmas fueron autenticadas ante el señor Notario Dr. Hans Christoph Beil, son sus representantes legales en este país.

Frankfurt am Main, Marzo 10, 2000


MARCELA RODRIGUEZ
VICE-CONSUL DE COLOMBIA

Derechos cancelados:
Impuesto de Timbre:
Fondo Rotatorio:

US\$ 7.00
US\$ 100.00



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Arce
137351

POD 23 Jan
A FIRMA APARECE
DOCUMENTO RESERVADO
LAS FUENTES INDICADAS

El Notario Cuanto del Círculo de
Poderes tiene fe de la autenticidad
del contenido de este documento en:
15 JUN 2007
CUBERTO CASTRO CASTRO
NOTARIO CUANTO

RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 MAR 21 APO 20

POD 23 Jan
TEST DE LEGALIZACIONES
SECRETARIA D.E.

Traducción oficial del alemán de la autenticación y legalización de firmas del poder que AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH domiciliada en Frankfurt am Main, República Federal de Alemania, otorga a Gustavo Hollmann Restrepo.

Registro Notarial No. 10 para el año 2000

Se autentican oficialmente las firmas que aparecen anteriormente, reconocidas en presencia mía como propias por:

1. Dr. Markus Jakobi, D-60385 Frankfurt am Main,
2. Dr. Hans-Jürgen Fischer, D-64297 Darmstadt,

a quienes yo, el suscrito Notario, conozco personalmente.

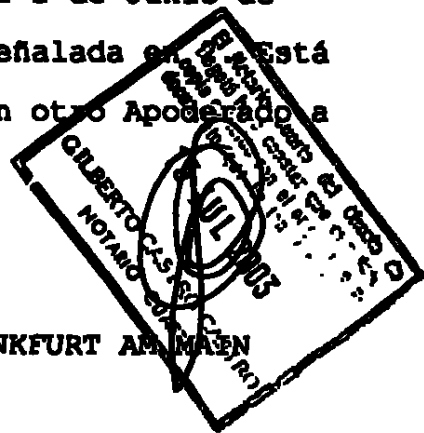
Al mismo tiempo se confirma que, de conformidad con el correspondiente Registro Comercial revisado el día de hoy por el Notario, la persona señalada en 1. está autorizada en su calidad de Apoderado para representar conjuntamente con otro Apoderado a la compañía Aventis Pharma Deutschland GmbH domiciliada en D-65926 Frankfurt am Main,

y que, de conformidad con el poder fechado el 2 de Junio de 1997 que me ha sido presentado, la persona señalada en 2. está autorizada para representar conjuntamente con otro Apoderado a la mencionada compañía

Frankfurt am Main, 11 de Febrero del 2000

DR. HANS CHRISTOPH BEIL, NOTARIO EN FRANKFURT AM MAIN

(Firma y Sello Oficial)



----- (continúa en la 2ª página) -----

Nota de gastos:

Valor del negocio =	DM 10.000,--
Impuesto Artículos 141, 32, 45 Disp. Impuestos	DM 20,--
Impuesto Artículo 150 I Disposición Impuestos	DM 20,--
16% Impuesto sobre el Valor Agregado	DM 6,40
Total	DM 46,40

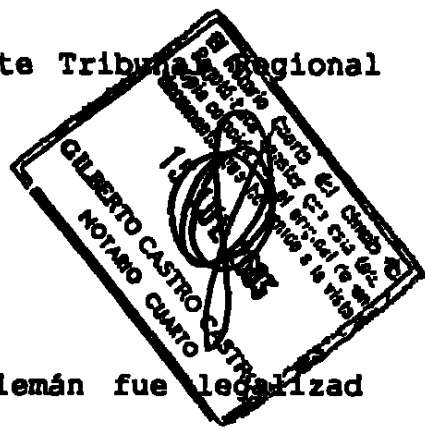
DR. HANS CHRISTOPH BEIL, NOTARIO (firma)

Se confirma mediante este documento la autenticidad de la firma que aparece anteriormente, la cual pertenece al Notario Dr. Hans Christoph Beil en Frankfurt am. Main, y también la autenticidad del sello oficial que aparece al lado de dicha firma.

Al mismo tiempo se certifica que la persona mencionada se encontraba legalmente autorizada para la ejecución de ese acto oficial.

Frankfurt am Main, 17.2.2000

Schlitz, Representante del Presidente Tribunal Regional
(Firma y Sello Oficial)



El documento traducido del alemán fue legalizado bajo el No. 137357 el día 21 de Marzo del 2000 en la Oficina de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores.

ADOLF WATZKE
Traductor Oficial
Res. 2433 Minjusticia

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2020 MAR 23 11:04:18

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

130028

11/12/20

LA FIRMA APARECE EN
DOCUMENTO DESEMPAÑADO
LAS FUNCIONES INDICADAS

El Notario General del Estado de
Frente a la Comisión de la Verdad y la
Cuestión de la Tierra
15 JUL 2003
GILBERTO CASTRO CASTRO
NOTARIO CUARTO

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
22 August 2002 (22.08.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/064146 A1

(51) International Patent Classification: A61K 31/66, C07C 233/65, A61P 1/16, 5/48, 9/06, 9/10, 9/12, 11/06, 13/12, 15/10, 19/10, 25/28

(74) Agent: ISENBRUCK, Günter; Patent- und Rechtsanwalt, Bardehle Pagenberg Dost Altenburg Geisler Isenbruck, Theodor-Heuss-Anlage 12, 68165 Mannheim (DE).

(21) International Application Number: PCT/EP02/01443

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date: 12 February 2002 (12.02.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 01102852.9 13 February 2001 (13.02.2001) EP

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

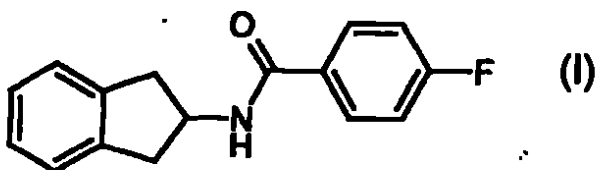
(71) Applicant: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brünningstrasse 50, 65926 Frankfurt am Main (DE).

(72) Inventors: WOHLFART, Paulus; Bertolt-Brecht-Ring 16c, 64625 Bensheim (DE). SUZUKI, Teri; 1509 N. Blacklawn Ave., Tucson, AZ 85745 (US). DHARA-NIPRAGADA, Ramalinga, M.; 805 Taggart Dr, Belle Mead, NJ 08502-6413 (US). SAFAROVA, Alena; 12431 N. Forest Lake Way, Tucson, AZ 85737 (US). WALSER, Armin; 5900 N. Camino Miraval, Tucson, AZ 85718 (US). STROBEL, Hartmut; Erlenweg 22, 65835 Liederbach (DE).

Published:
with international search report
before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

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

(54) Title: 4-FLUORO-N-INDAN-2-YL BENZAMIDE AND ITS USE AS PHARMACEUTICAL



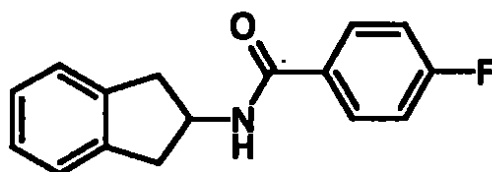
(57) Abstract: The present invention relates to 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide according to the formula (I), and its use as pharmaceutical. The compound (I) can be used for the therapy and prophylaxis of cardiovascular diseases like stable and unstable angina pectoris, Prinzmetal angina (spasm), acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, stroke, thrombosis, peripheral artery occlusive disease PAOD, atherosclerosis, restenosis, endothel damage after PTCA, essential hypertension,

pulmonary hypertension, secondary hypertension, renovascular chronic glomerulonephritis, erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, and the lowering of cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptive, the therapy and prophylaxis of diabetes and diabetes complications (nephropathy, retinopathy), angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, restricted memory performance or a restricted ability to learn.

WO 02/064146 A1

4-Fluoro-N-indan-2-yl benzamide and its use as pharmaceutical

5 The present invention relates to 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide of the formula (I) and its use as pharmaceutical agent.



(I)

15 Endothelial NO synthase (eNOS, NOS-III) belongs to a group of three isoenzymes which produce nitric oxide (NO) by oxidation of arginine. Endothelially released NO is of central importance in a number of key cardiovascular mechanisms. It has a vasodilating effect and inhibits the aggregation of platelets, the adhesion of leukocytes to the endothelium and the proliferation of intimal smooth muscle cells.

20 Endothelial NO synthase is subject to physiological and pathophysiological regulation both at the transcriptional and at the post-transcriptional level. Enzyme already present in the endothelium may undergo calcium-dependent and calcium-independent activation through phosphorylation of specific amino acids, but also by direct interactions with specific proteins. Stimulators of this, usually transient, NO release are extracellular arginine, 17 β -estrogen and the mechanical stimulus exerted on the luminal surface of the
25 endothelium by the blood flow (shear stress). The latter additionally leads to regulation of eNOS at the transcriptional level. Thus, for example, Sessa et al. (Circ. Research 74 (1994) 349-353) were able by means of exercise training and the increase in shear stress associated therewith to obtain a marked increase in ecNOS.

30 Whether regulation at the post-transcriptional level is relevant in vivo, is not unambiguously proved. Thus, for example, administration of a high arginine dose is

followed by only a transient improvement in the endothelium-dependent vasorelaxation in patients with coronary heart disease.

On the other hand, the significance of the upregulation of the eNOS protein is scientifically accepted. Thus, there are findings which show that the protective properties of the HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin can be attributed, besides the lipid lowering, also in part to an increase in eNOS expression in vivo (Endres et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 (1998) 8880-8885). It is additionally known that single point mutations in the 5'-flanking region of the eNOS gene ("eNOS promoter"), and the reduction in the rate of eNOS gene transcription associated therewith, in the Japanese population is associated with an increase in the risk of coronary spasms (Nakayama et al., Circulation 99 (1999) 2864-2870).

The current assumption therefore is that the transcriptional and post-transcriptional mechanisms of eNOS regulation are seriously disturbed in a large number of disorders, especially in cardiovascular disorders. Even in very early stages of a wide variety of cardiovascular disorders it is possible for a dysfunction of this type in the endothelium lining the blood vessels to lead to a deficiency of bioactive NO, which is manifested as the disorder progresses in the form of measurable pathophysiological and morphological changes. Thus, critical steps in early atherogenesis are speeded up by a decrease in endothelial NO release, such as, for example, the oxidation of low density lipoproteins, the recruitment and deposition of monocytes in the intima of vessels, and the proliferation of intimal cells. A consequence of atherogenesis is the formation of plaques on the inside of the blood vessels, which may in turn lead, through a diminution in the shear stress, to a further decrease in endothelial NO release and a further deterioration in the pathology. Since endothelial NO is also a vasodilator, a decrease thereof frequently also leads to hypertension, which may, as an independent risk factor, cause further organ damage.

The aim of a therapeutic approach to the treatment of these disorders must accordingly be to interrupt this chain of events by increasing the endothelial NO expression. Gene transfer experiments which lead in vitro to overexpression of NO synthase in previously damaged vessels are in fact able to counteract the described processes and are thus evidence of the correctness of this approach (Varenne et al., Hum. Gene Ther. 11 (2000) 1329).

12
12

- 3 -

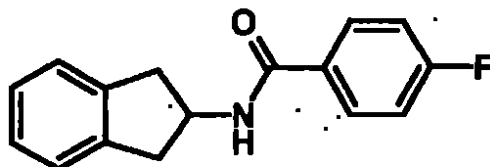
Some low molecular weight compounds which, in cell cultures, may lead to a direct effect on eNOS transcription and expression are disclosed in the literature. The statins which have already been mentioned are, however, the only substances for which it has been possible to date to show such an increase in eNOS in vivo as a side effect. In view of the
5 known range of side effects of this class of substances, however, it is unclear how far this effect is present in a toxicologically unproblematic dose.

Liao et al. claim in WO 99/47153 and WO 00/03746 the use of rhoGTPase inhibitors and agents which influence the organization of the actin cytoskeleton for increasing eNOS in
10 endothelial cells and for the therapy of various disorders such as, for example, strokes or pulmonary hypertension, without, however, indicating a specific way of achieving this.

Thus, there exists a strong need for a medicament which upregulate eNOS-expression in endothelial cells. The object of the present invention is to provide a compound showing
15 this ability.

This object is attained by the use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide according to the formula (I)

20



(I)

for the manufacture of a medicament for the stimulation of the expression of endothelial
25 NO synthase.

This object is also attained by a pharmaceutical preparation for the stimulation of the expression of endothelial NO synthase comprising an effective dose of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide and a pharmaceutically acceptable carrier.

30

- 4 -

The present invention furthermore includes the use of all solvates of the compound according to formula (I), for example hydrates, adducts with alcohols, active metabolites of the compound of formula (I), and also derivatives and prodrugs of the compound of formula (I) which contain physiologically tolerable and cleavable groups, for example
5 esters, amides and compounds in which the N-H group depicted in formula (I) is replaced with a N-alkyl group, such as N-methyl, or with a N-acyl group, such as N-acetyl or N-argininyl, including pharmaceutically acceptable salts formed on functional groups present in the N-acyl group.

10 WO 00/51970 discloses the manufacture and use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide as a medicament. The compound possesses strong potentiation of the cholinergic activity, and is useful for the treatment and/or prevention of disorders in the central nervous system for mammals, and more particularly of amnesia, dementia, e.g. senile dementia, Alzheimer's
15 dementia, dementia associated with various diseases such as cerebral vascular dementia, cerebral post-traumatic dementia, dementia due to brain tumor, dementia due to chronic subdural hematoma, dementia due to normal pressure hydrocephalus, post-meningitis dementia, Parkinson's disease type dementia, and the like. The compound is expected to be useful as therapeutical and/or preventive agent for schizophrenia, depression, stroke, head
20 injury, nicotine withdrawal, spinal cord injury, anxiety, pollakiuria, incontinence of urine, myotonic dystrophy, attention deficit hyperactivity disorder, excessive daytime sleepiness (narcolepsy), Parkinson's disease or autism. WO 00/51970 does not disclose or suggest the use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide for the upregulation of the expression of
25 endothelial NO-synthase in particular for the treatment of cardiovascular diseases, stable or unstable angina pectoris, coronary heart disease, Prinzmetal angina, acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, stroke, thrombosis, peripheral artery
30 occlusive disease, endothelial dysfunction, atherosclerosis, restenosis, endothel damage after PTCA, hypertension, essential hypertension, pulmonary hypertension, secondary hypertension, renovascular hypertension, chronic glomerulonephritis, erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, diabetes or diabetes complications, nephropathy, retinopathy,
angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, osteoporosis, restricted memory performance, a restricted ability to learn, or the lowering of
cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptiva.

The compound according to formula (I) can be prepared starting from 2-indanylamine which is known in the literature. 2-Indanyl amine can be reacted, in the form of the free
35 base or a salt thereof, with 4-fluorobenzoylchloride in the presence of a base like, for

- 5 -

example, triethylamine. The reaction is generally carried out in a solvent like dichloromethane, tetrahydrofuran, toluene or dioxane, and preferably at room temperature. Alternatively, the compound according to the formula (I) is obtained by a coupling reaction of the said 2-indanyl amine with 4-fluorobenzoic acid, in the presence of a base like, for example, diisopropylethylamine, and the use of an appropriate coupling reagent like, for example, carbodiimides, HATU or TOTU.

Further reactions for the synthesis of the compound according to the formula (I) are apparent to or well-known to the skilled person and can be carried out under standard conditions according to or analogously to procedures described in the literature, for example in Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie (Methods of Organic Chemistry), Thieme-Verlag, Stuttgart, or Organic Reactions, John Wiley & Sons, New York. If desired, the compound of the formula (I) can be purified by customary purification procedures, for example by recrystallization or chromatography. The starting compounds for the preparation of the compound of the formula (I) are commercially available or can be prepared according to or analogously to literature procedures.

The compound according to the formula (I) can be used to upregulate the expression of the endothelial NO synthase and is a useful pharmaceutical compound for the treatment of various diseases. In the context of the present invention, treatment includes the therapy as well as the prophylaxis of the respective diseases.

Examples of diseases which can be treated with the compound (I) according to the present invention include cardiovascular diseases like stable and unstable angina pectoris, coronary heart disease, Prinzmetal angina (spasm), acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, stroke, thrombosis, peripheral artery occlusive disease (PAOD), endothelial dysfunction, atherosclerosis, restenosis, endothel damage after PTCA, hypertension including essential hypertension, pulmonary hypertension, and secondary hypertension (renovascular hypertension, chronic glomerulonephritis), erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, and the lowering of cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptiva.

Compound (I) can additionally be used in the therapy and prophylaxis of diabetes and diabetes complications (nephropathy, retinopathy), angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, osteoporosis, restricted memory performance or a restricted ability to learn.

Preferred indications are stable angina pectoris, coronary heart disease, hypertension, endothelial dysfunction, atherosclerosis and diabetes complications.

The compound according to the formula (I) can also be used in combination with other pharmaceutically active compounds, preferably compounds which are able to enhance the effect of the compound according to the formula (I). Examples of such compounds include: statins; ACE-inhibitors; AT1-antagonists; argininase-inhibitors; PDE V-inhibitors; Ca-antagonists; alpha-blockers; beta-blockers; metimazol and analogous compounds; arginine; tetrahydrobiopterin; vitamins, in particular vitamin C and vitamin B6; niacine.

The compound (I), optionally in combination with other pharmaceutically active compounds, can be administered to animals, preferably to mammals, and in particular to humans, as pharmaceutical by itself, or in the form of pharmaceutical preparations. Further objects of the present invention are pharmaceutical preparations (or pharmaceutical compositions) which comprise an effective dose of the compound of the formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier, i.e. one or more pharmaceutically acceptable carrier substances and/or additives. Said pharmaceutical preparation are used for stimulating the expression of endothelial NO synthase and in particular a medicament for the therapy and prophylaxis of the above-mentioned syndromes.

The pharmaceutical according to the invention can be administered orally, for example in the form of pills, tablets, lacquered tablets, sugar-coated tablets, granules, hard and soft gelatin capsules, aqueous, alcoholic or oily solutions, syrups, emulsions or suspensions, or rectally, for example in the form of suppositories. Administration can also be carried out parenterally, for example subcutaneously, intramuscularly or intravenously in the form of solutions for injection or infusion. Other suitable administration forms are, for example, percutaneous or topical administration, for example in the form of ointments, tinctures, sprays or transdermal therapeutic systems, or the inhalative administration in the form of nasal sprays or aerosol mixtures, or, for example, microcapsules, implants or rods. The preferred administration form depends, for example, on the disease to be treated and on its severity.

The amount of the compound of the formula (I) in the pharmaceutical preparations normally ranges from 0.2 to 800 mg, preferably from 0.5 to 500 mg, in particular from 1 to 200 mg, per dose, but depending on the type of the pharmaceutical preparation it may also be higher. The pharmaceutical preparations usually comprise 0.5 to 90 percent by weight

14
14

of the compound of the formula (I). The preparation of the pharmaceutical preparations can be carried out in a manner known per se. To this end, the compound of the formula (I), together with one or more solid or liquid pharmaceutical carrier substances and/or additives (or auxiliary substances) and, if desired, in combination with other
5 pharmaceutically active compounds having therapeutic or prophylactic action, are brought into a suitable administration form or dosage form which can then be used as a pharmaceutical in human or veterinary medicine.

For the production of pills, tablets, sugar-coated tablets and hard gelatin capsules it is
10 possible to use, for example, lactose, starch, for example maize starch, or starch derivatives, talc, stearic acid or its salts, etc. Carriers for soft gelatin capsules and suppositories are, for example, fats, waxes, semisolid and liquid polyols, natural or hardened oils, etc. Suitable carriers for the preparation of solutions, for example of
15 solutions for injection, or of emulsions or syrups are, for example, water, physiologically sodium chloride solution, alcohols such as ethanol, glycerol, polyols, sucrose, invert sugar, glucose, mannitol, vegetable oils, etc. It is also possible to lyophilize the compound of the formula (I) and to use the resulting lyophilisates, for example, for preparing preparations for injection or infusion. Suitable carriers for microcapsules, implants or rods are, for example, copolymers of glycolic acid and lactic acid.

20 Besides the compound (I) and carriers, the pharmaceutical preparations can also contain additives, for example fillers, disintegrants, binders, lubricants, wetting agents, stabilizers, emulsifiers, dispersants, preservatives, sweeteners, colorants, flavorings, aromatizers, thickeners, diluents, buffer substances, solvents, solubilizers, agents for achieving a depot
25 effect, salts for altering the osmotic pressure, coating agents or antioxidants.

The dosage of the compound of the formula (I) to be administered depends on the individual case and is, as is customary, to be adapted to the individual circumstances to achieve an optimum effect. Thus, it depends on the nature and the severity of the disorder
30 to be treated, and also on the sex, age, weight and individual responsiveness of the human or animal to be treated, on the duration of action of the compound (I), on whether the therapy is acute or chronic or prophylactic, or on whether other active compounds are administered in addition to the compound of the formula (I). In general, a daily dose of approximately 0.01 to 100 mg/kg, preferably 0.1 to 10 mg/kg, in particular 0.3 to 5 mg/kg
35 (in each case mg per kg of bodyweight) is appropriate for administration to an adult weighing approximately 75 kg in order to obtain the desired results. The daily dose can be

- 8 -

administered in a single dose or, in particular when larger amounts are administered, be divided into several, for example two, three or four individual doses. In some cases, depending on the individual response, it may be necessary to deviate upwards or downwards from the given daily dose.

5

The compound according to the formula (I) can also be used for purposes other than those indicated in the foregoing. Non-limiting examples include diagnostic purposes, the use as biochemical tools, and as intermediates for the preparation of further compounds, e.g. pharmaceutically active compounds.

10

The present invention will now be illustrated in the following example:

Example:

15 **Preparation of 4-Fluoro-N-(indan-2-yl)-benzamide**

43.70g (258mol) 2-aminoindane hydrochloride and 53.43g (528mmol) triethylamine were mixed with 250 ml of tetrahydrofuran, 42.89g (270 mmol) 4-fluorobenzoylchloride were added, and the mixture was stirred for 2 h at RT.

20 The resulting mixture was then poured onto an ice/HCl-mixture, the obtained precipitate was filtered, washed with a NaHCO₃-solution and water and dried in vacuo. The crude product was crystallized from methanol. There were obtained 47.8 g (73%) of a white, crystalline product.

mp.:167°C

25 MS: M+H⁺:256.1

¹H-NMR (300 MHz, d₆-DMSO): 2.96 (dd, 2H, H1/H3), 3.25 (dd, 2H, H3/H1), 4.70 (sextett, 1H, H2), 7.12 - 7.19 (m, 2H, H4,7/5,6), 7.20 - 7.28 (m, 2H, H5,6/4,7), 7.30 (t, 2H, H3', 5'), 7.95 (dd, 2H, H2',6'), 8.68 (d, 1H, NH)

30

Measurement of activation of eNOS transcription

Activation of eNOS transcription was measured as described in detail in Li et al. "Activation of protein kinase C alpha and/or epsilon enhances transcription of the human endothelial nitric oxide synthase gene", Mol. Pharmacol. 1998; 53: 630-637.

Briefly, a 3,5kB long fragment 5' of the starting codon of the eNOS gene was cloned, sequenced and cloned in firefly luciferase expression plasmids to monitor activation of the eNOS promoter by reporter gene activity. A human endothelial cell line stable transfected and expressing this promoter-reporter construct was used for compound testing. Cells were incubated for 18h with the compound (I).

The compound was dissolved before in sterile DMSO. A final concentration of 0.5% DMSO in complete medium was allowed. Induction of reporter gene expression in these cells was measured using a standard luciferase assay system (Promega, Cat. No E150) according to the manufacturer's instructions. Luciferase induction in cells incubated with compound (I) were compared to those incubated with solvent alone. The ratio of both activities (transcription induction ratio, TIR) was plotted as a function of compound concentration. Typically, TIR values started at low concentrations at a ratio of 1, indicating no compound effect, and extended up to a maximum TIR value TIR(max) which indicates the increase of the eNOS transcription. EC₅₀ values of transcription induction ratios as a function of compound concentration were determined graphically.

The effect of the compound (I) on eNOS-transcription was confirmed in a second assay based on eNOS protein detection. Primary human umbilical vein cord endothelial cells (HUVEC) were isolated and cultivated according to standard procedures. Confluent cells were incubated with compound (I) for 18h and the effect on eNOS protein expression determined by a quantitative Westernblotting procedure. After incubation of compound (I), HUVEC were lysed in ice-cold lysis buffer containing 10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1% SDS and protease inhibitors. The lysate was subjected to a standard denaturing polyacrylamid gel electrophoresis and blotted to nitrocellulose membranes. Using a specific primary monoclonal antibody (Transduction Laboratories, UK) and alkaline phosphatase labelled secondary antibody (Jackson Labs), a specific eNOS protein band was visualized and quantified based on a chemifluorescence detection method.

For the compound (I), the EC₅₀-value was 0.8 µM, the TIR(max)-value was 4.10.

Animal Models

All animal experiments were performed in accordance to the German animal protection law and to the guidelines for the use of experimental animals as given by the Guide for the
5 Care and Use of Laboratory Animals of the US National Institutes of Health.

Animals and Treatment (Experiments A - C)

ApoE and eNOS deficient mice (C57BL/6J background, Jackson Laboratory, Bar Harbor, Me) were used. All animals were 10 - 12 weeks of age and weighed 22 to 28 g. Three days
10 before surgery mice were divided into 4 groups (apoE control, n=10-12; apoE with compound (I), n=10-12; eNOS control, n=10-12; eNOS with compound (I), n=10-12) and received either a standard rodent chow (containing 4 % fat and 0,001 % cholesterol; in the following designated as placebo group) or a standard rodent chow + compound (I) (10 or
15 30 mg/kg/d p.o.).

A Anti-hypertensive effect in ApoE knockout mice

Blood-pressure was determined in conscious mice using a computerized tail-cuff system.

For compound (I), after 4 months treatment of ApoE deficient mice blood pressure was
20 significantly ($p < 0.05$) lowered in the 30 mg/kg/d group compared to placebo treatment (92 ± 5 mmHg versus 115 ± 2 mmHg). No blood pressure reduction could be observed at similar dosing in eNOS deficient mice after 4 weeks treatment.

B Inhibition of neointima formation and atherogenesis (femoral artery cuff)

After 3 day treatment of ApoE deficient mice with compound (I), (10mg/kg/d pressed in
chow), animals were anesthetized with an intraperitoneal injection of pentobarbital (60
30 mg/kg) followed by an intramuscular injection of xylazin (2 mg/kg) and a cuff was placed around the femoral artery as described in Moroi et al. (J Clin Invest. 101:1225-32, 1998). Briefly, the left femoral artery was dissected. A non-occlusive 2,0 mm polyethylene cuff made of PE-50 tubing (inner diameter 0,56 mm, outer diameter 0,965 mm, Becton Dickinson, Mountain View, Ca) was placed around the artery and tied in place with two 7-
35 0 sutures. The right femoral artery was isolated from the surrounding tissues but a cuff was not placed. Treatment with compound (I) was continued for 14 days after surgery. Then the

16
16

- 11 -

animals were sacrificed. The aorta were taken for determination of vascular eNOS expressions by quantitative western blotting. Both femoral arteries were harvested, fixed in formalin and embedded in paraffin. 20 cross sections (10 μ m) were cut from the cuffed portion of the left femoral artery and from the corresponding segment of the right artery. Sections were subjected to standard hematoxylin and eosin staining. Morphometric analyses were performed using an image analysis computer program (LeicaQWin, Leica Imaging Systems, Cambridge, GB). For each cross section the area of the lumen, the neointima and the media were determined. To this end, the neointima was defined as the area between the lumen and the internal elastic lamina and the media was defined as the area between the internal and the external elastic lamina. The ratio between the area of the neointima and the area of the media was expressed as the neointima/media ratio.

Compound (I) reduced the maladaptive neo-intima formation by a factor of 2, decreasing the neointima to media ratio from 0.39 ± 0.07 in the placebo group to 0.170 ± 0.04 in the compound group. In parallel, vascular eNOS expression was enhanced by a factor of 2.1. No effect of compound (I) could be demonstrated in a similar setup using eNOS deficient mice instead of ApoE knockout mice.

C Prevention of atherosclerotic plaque formation in chronic treatment

ApoE deficient mice were treated for 16 weeks with compound (I) pressed in chow and finally sacrificed. Aortas were removed from each mouse, fixed in formalin and embedded in paraffin. Plaque formation was measured via lipid lesions formation in the aortas (from aortic arch to diaphragm) and was analyzed by oil red O staining. For quantifying the effect of the respective compound on vascular eNOS expression the femoral arteries were used in this experiment.

Compound (I) according to the present invention significantly reduced plaque formation ($5.2 \pm 1\%$ versus 13.3 ± 2.6 in the placebo group, values in overall plaque size in % of total surface). Vascular eNOS expression was found to be 1.75 fold up-regulated in the treatment group.

D Improvement of coronary function in diseased ApoE deficient mice

Old Male wild-type C57BL/6J mice (Charles River Wiga GmbH, Sulzfeld), and apoE deficient mice (C57BL/6J background, Jackson Laboratory, Bar Harbor, Me) 6 month of

- 12 -

age and weighing 28 to 36 g were used in the experiments. Mice were divided into 3 groups (C57BL/6, n=8; apoE control, n=8; apoE with compound (I), n=8) and received for 8 weeks either a standard rodent chow (containing 4 % fat and 0,001 % cholesterol) or a standard rodent chow + compound (I) (30 mg/kg/d p.o.).

5

Mice were anesthetized with sodium pentobarbitone (100 mg/kg i.p.), and the hearts were rapidly excised and placed into ice-cold perfusion buffer. The aorta was cannulated and connected to a perfusion apparatus (HUGO SACHS ELECTRONICS, Freiburg, Germany) which was started immediately at a constant perfusion pressure of 60 mm Hg. Hearts were
10 perfused in a retrograde fashion with modified Krebs bicarbonate buffer, equilibrated with 95% O₂ and 5 % CO₂ and maintained at 37.5° C.

A beveled small tube (PE 50) was passed through a pulmonary vein into the left ventricle and pulled through the ventricular wall, anchored in the apex by a fluted end, and
15 connected to a tip-micromanometer (Millar 1.4 French). The left atrium was cannulated through the same pulmonary vein and the heart switched to the working mode with a constant preload pressure of 10 mm Hg and an afterload pressure of 60 mm Hg. Aortic outflow and atrial inflow were continuously measured using ultrasonic flow probes (HSE/Transonic Systems Inc.). Coronary flow was calculated as the difference between
20 atrial flow and aortic flow. All hemodynamic data were digitized at a sampling rate of 1000 Hz and recorded with a PC using specialized software (HEM, Notocord).

Hearts were allowed to stabilize for 30 min. All functional hemodynamic data were measured during steady state, and during volume- and pressure loading.

25

Left ventricular function curves were constructed by varying pre-load pressure. For acquisition of preload curves, afterload was set at 60 mm Hg and preload was adjusted in 5 mm Hg steps over a range of 5 to 25 mm Hg. Hearts were allowed to stabilize at baseline conditions between pressure- and volume-loading.

30

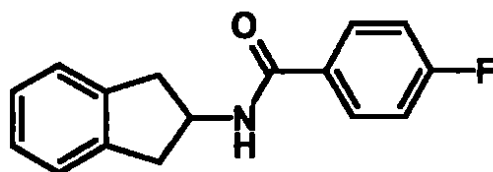
Isolated hearts from ApoE deficient animals displayed a lower coronary flow in this setup compared to C57Bl6 wildtype mice (3.6 ml/min versus 4,95 ml/min). Treatment of ApoE deficient animals with the compound (I) according to the present invention increased coronary flow to 5 ml/min comparable to the levels of non-diseased wildtype mice.

35

Compound (I) also improved pre-load dependent coronary flow and reduced the incidence of ventricular arrhythmias as an indicator for anti-ischemic efficacy.

Claims:

1. The use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide according to the formula (I)



(I)

for the manufacture of a medicament for the stimulation of the expression of endothelial NO synthase.

2. The use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide for the manufacture of a medicament for the treatment of cardiovascular diseases, stable or unstable angina pectoris, coronary heart disease, Prinzmetal angina, acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, stroke, thrombosis, peripheral artery occlusive disease, endothelial dysfunction, atherosclerosis, restenosis, endothel damage after PTCA, hypertension, essential hypertension, pulmonary hypertension, secondary hypertension, renovascular hypertension, chronic glomerulonephritis, erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, diabetes or diabetes complications, nephropathy, retinopathy, angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, osteoporosis, restricted memory performance, a restricted ability to learn, or the lowering of cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptiva.
3. The use according to claim 1 or 2, wherein the medicament is for the treatment of endothelial dysfunction, hypertension, coronary heart disease, stable angina pectoris, diabetes complications or atherosclerosis.

4. A pharmaceutical preparation for the stimulation of the expression of endothelial NO synthase comprising an effective dose of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide and a pharmaceutically acceptable carrier.
- 5 5. A pharmaceutical preparation for the treatment of cardiovascular diseases, stable or unstable angina pectoris, coronary heart disease, Prinzmetal angina, acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, stroke, thrombosis, peripheral artery occlusive disease, endothelial dysfunction, atherosclerosis, restenosis, endothel
10 damage after PTCA, hypertension, essential hypertension, pulmonary hypertension, secondary hypertension, renovascular hypertension, chronic glomerulonephritis, erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, diabetes or diabetes complications, nephropathy, retinopathy, angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, osteoporosis, restricted memory performance, a restricted
15 ability to learn, or the lowering of cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptiva, said preparation comprising an effective dose of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide and a pharmaceutically acceptable carrier.
6. A pharmaceutical preparation according to claim 4 or 5, which pharmaceutical
20 preparation is in the form of a pill, tablet, lacquered tablet, sugar-coated tablet, granule, hard or soft gelatin capsule, aqueous, alcoholic or oily solution, syrup, emulsion or suspension, suppository, solution for injection or infusion, ointment, tincture, spray, transdermal therapeutic system, nasal spray, aerosol mixture, microcapsule, implant or rod.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 02/01443

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/66 C07C233/65 A61P1/16 A61P5/48 A61P9/06
A61P9/10 A61P9/12 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/10
A61P19/10 A61P25/28

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K C07C A61P

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

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

WPI Data, EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data, SCISEARCH, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 51970 A (AOKI SATOSHI ; YAMADA AKIRA (JP); FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO (JP)) 8 September 2000 (2000-09-08) page 1, line 16 - page 2, line 2 page 12, line 8 - line 20; example 17	1-6
A	MCCARTY M F: "Up-regulation of endothelial nitric oxide activity as a central strategy for prevention of ischemic stroke: Just say NO to stroke " MEDICAL HYPOTHESES, vol. 55, no. 5, November 2000 (2000-11), pages 386-403, XP000995706 ISSN: 0306-9877 * inducers of eNOS on pages 390 to 391 *	1-6



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 June 2002

Date of mailing of the international search report

02/07/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentkan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Pilling, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

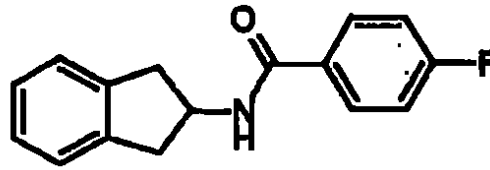
International Application No

PCT/EP 02/01443

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0051970	A	08-09-2000	AU	2325700 A	21-09-2000
			BR	0010225 A	22-01-2002
			CN	1341095 T	20-03-2002
			EP	1159258 A1	05-12-2001
			WO	0051970 A1	08-09-2000
			TR	200102494 T2	21-01-2002

4-Fluoro-N-indan-2-il-benzamida y su uso como producto farmacéutico

La presente invención se refiere a la 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida de la fórmula (I) y a su uso como agente farmacéutico.



5

(I)

La NO-sintasa endotelial (eNOS, NOS-III) pertenece a un grupo de tres isoenzimas que producen óxido nítrico (NO) por oxidación de la arginina. El NO liberado endotelialmente es de central importancia en una serie de mecanismos cardiovasculares claves. Tiene un efecto vasodilatador e inhibe la agregación plaquetaria, la adhesión de los leucocitos al endotelio y la proliferación de las células del músculo liso de la íntima.

La NO-sintasa endotelial está sometida a una regulación fisiológica y patofisiológica tanto a nivel transcripcional como a nivel post-transcripcional. La enzima ya presente en el endotelio puede sufrir una activación calcio-dependiente y calcio-independiente a través de la fosforilación de aminoácidos específicos, pero también por interacciones directas con proteínas específicas. Los estimuladores de esta liberación de NO, usualmente transitoria, son la arginina extracelular, los 17β -estrógenos y el estímulo mecánico ejercido sobre la superficie luminal del endotelio por el flujo sanguíneo (tensión cortante). Adicionalmente, el último lleva a la regulación de la eNOS a nivel transcripcional. De este modo, por ejemplo, Sessa *et al.*, (Circ. Research 74 (1994) 349-353) fueron capaces de obtener un marcado incremento de la eNOS por medio del entrenamiento con ejercicio y por el incremento de la tensión cortante asociado con el mismo.

No se ha probado sin ambigüedad si la regulación en el nivel post-transcripcional es relevante *in vivo*. Por tanto, por ejemplo, la administración de una dosis alta de arginina sólo va seguida de una mejora transitoria de la vasorrelajación endotelio-dependiente en los pacientes con cardiopatía isquémica.

Por otro lado, la importancia de la regulación por incremento de la proteína eNOS está aceptada científicamente. Así, existen hallazgos que demuestran que las propiedades protectoras del inhibidor de la HMG-CoA-reductasa, simvastatina, pueden ser atribuidas, además de a la reducción de lípidos, también en parte a un aumento en la expresión de la eNOS *in vivo* (Endres *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 (1998) 8880-8885). Adicionalmente, es conocido que las mutaciones en un único punto de la

región que flanquea el borde 5' del gen de eNOS ("promotor de eNOS"), y la reducción de la velocidad de transcripción del gen de eNOS asociada con las mismas, se asocian en la población japonesa con un aumento del riesgo de espasmos coronarios (Nakayama *et al.*, Circulation 99 (1999) 2864-2870).

5 Por tanto actualmente se da por hecho que los mecanismos transcripcionales y post-transcripcionales de la regulación de la eNOS son seriamente alterados en un gran número de trastornos, especialmente en los trastornos cardiovasculares. Incluso en las etapas muy iniciales de una amplia variedad de trastornos cardiovasculares es posible que una disfunción de este tipo en el endotelio que cubre los vasos sanguíneos lleve a
10 una deficiencia del NO bioactivo, lo que se manifiesta, cuando progresa el trastorno, en forma de cambios patofisiológicos y morfológicos cuantificables. De este modo, las etapas críticas de la aterogénesis inicial se aceleran por una reducción de la liberación del NO endotelial, tal como, por ejemplo, por la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, el agrupamiento y depósito de los monocitos en la íntima de los vasos, y la proli-
15 feración de las células de la íntima. Una consecuencia de la aterogénesis es la formación de placas en el interior de los vasos sanguíneos, lo que a su vez puede llevar, a través de una disminución de la tensión cortante, a una reducción adicional de la liberación del NO endotelial y a un posterior deterioro de la patología. Puesto que el NO endotelial es también un vasodilatador, una reducción del mismo frecuentemente lleva también a
20 hipertensión, que puede, como un factor de riesgo independiente, causar daños orgánicos adicionales.

El objetivo de un método terapéutico para el tratamiento de estos trastornos debe ser, por tanto, interrumpir esta cadena de acontecimientos al aumentar la expresión del NO endotelial. Los experimentos de transferencia génica que llevan *in vitro* a la sobre-
25 expresión de la NO-sintasa en vasos previamente dañados, son capaces de hecho de contrarrestar los procedimientos descritos y existen por tanto pruebas de la exactitud de este método (Varenne *et al.*, Hum. Gene Ther. 11 (2000) 1329).

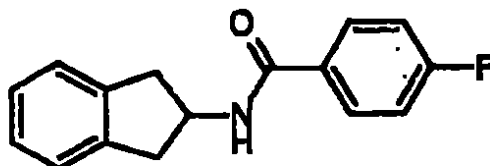
En la literatura médica están descritos algunos compuestos de bajo peso molecular que, en los cultivos celulares, pueden llevar a un efecto directo sobre la transcripción
30 y expresión de la eNOS. Las estatinas que ya han sido mencionadas son, sin embargo, las únicas sustancias de las que ha sido posible, hasta la fecha, demostrar tal aumento de la eNOS *in vivo* como un efecto secundario. En vista del intervalo conocido de efectos

secundarios de esta clase de sustancias, sin embargo, no está claro hasta dónde está presente este efecto en una dosis toxicológicamente no problemática.

Liso *et al.*, reivindican en los documentos WO 99/47153 y WO 00/03746 el uso de los inhibidores de la rhoGTP-asa y de los agentes que influyen en la organización del citoesqueleto de la actina para aumentar la eNOS en las células endoteliales y para la
5 terapia de diferentes trastornos tales como, por ejemplo, los ictus o la hipertensión pulmonar, sin que indiquen, sin embargo, un modo específico para conseguir esto.

Por tanto, existe una gran necesidad de un medicamento que regule por aumento la expresión de la eNOS en las células endoteliales. El objetivo de la presente invención
10 es proporcionar un compuesto que presente esta capacidad.

Este objetivo se consigue por el uso de la 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida según la fórmula (I)



(I)

15 para la fabricación de un medicamento para la estimulación de la expresión de la NO-sintasa endotelial.

Este objetivo se consigue también por una preparación farmacéutica para la estimulación de la expresión de la NO-sintasa endotelial que comprende una dosis efectiva de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida y excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 La presente invención incluye además el uso de todos los solvatos del compuesto según la fórmula (I), por ejemplo los hidratos, aductos con alcoholes, metabolitos activos del compuesto de la fórmula (I), y también derivados y profármacos del compuesto de la fórmula (I) que contienen grupos fisiológicamente tolerables y escindibles, por ejemplo, ésteres, amidas y compuestos en los que el grupo N-H representado en la
25 fórmula (I) está reemplazado con un grupo N-alquilo, tal como N-metilo, o con un grupo N-acilo, tal como N-acetilo o N-argininilo, incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables formadas sobre grupos funcionales presentes en el grupo N-acilo.

El documento WO 00/51970 describe la fabricación y el uso de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida como un medicamento. El compuesto tiene una fuerte capacidad
30 de potenciación de la actividad colinérgica, y es útil para el tratamiento y/o prevención de trastornos del sistema nervioso central en los mamíferos, y más particularmente de la

22
22

amnesia, demencia, por ejemplo demencia senil, demencia de Alzheimer, demencia asociada con diferentes enfermedades tales como la demencia cerebrovascular, demencia cerebral post-traumática, demencia debida a un tumor cerebral, demencia debida a hematoma subdural crónico, demencia debida a hidrocefalia normotensa, demencia post-meningitis, demencia del tipo enfermedad de Parkinson, y similares. Es de esperar que el compuesto sea útil como agente terapéutico y/o preventivo para la esquizofrenia, depresión, ictus, lesiones cerebrales, abandono de la nicotina, lesión de la médula espinal, ansiedad, polialquiuria, incontinencia de orina, distrofia miotónica, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, excesiva somnolencia durante el día (narcolepsia), enfermedad de Parkinson o autismo. El documento WO 00/51970 no describe ni sugiere el uso de la 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida para la regulación por aumento de la expresión de la NO-sintasa endotelial, en particular para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, angina de pecho estable o inestable, cardiopatía isquémica, angina de Prinzmetal, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, ictus, trombosis, enfermedad oclusiva de las arterias periféricas, disfunción endotelial, aterosclerosis, restenosis, daños endoteliales después de PTCA, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión secundaria, hipertensión renovascular, glomerulonefritis crónica, disfunción eréctil, arritmia ventricular, diabetes o complicaciones de la diabetes, nefropatía, retinopatía, angiogénesis, asma bronquial, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, osteoporosis, actividad restringida de la memoria, una capacidad restringida para aprender, o para la reducción del riesgo cardiovascular de las mujeres posmenopáusicas o después de la toma de anticonceptivos.

El compuesto según la fórmula (I) puede ser preparado partiendo de 2-indanilamina que es conocida en la bibliografía. Se puede hacer reaccionar la 2-indanilamina, en forma de base libre o una de sus sales, con cloruro de 4-fluorobenzoilo en presencia de una base como, por ejemplo, trietilamina. La reacción se lleva a cabo generalmente en un disolvente como diclorometano, tetrahidrofurano, tolueno o dioxano, y preferiblemente a temperatura ambiente. Alternativamente, el compuesto según la fórmula (I) se obtiene por una reacción de acoplamiento de dicha 2-indanilamina con ácido 4-fluorobenzoico, en presencia de una base como, por ejemplo, diisopropiletilamina, y el uso de un reactivo de acoplamiento apropiado como, por ejemplo, carbodiimidas, HATU o TOTU.

28
13

Reacciones adicionales para la síntesis del compuesto según la fórmula (I) son evidentes o bien conocidas por los expertos y se pueden llevar a cabo en condiciones estándar de forma análoga o según procedimientos descritos en la bibliografía, por ejemplo, en Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie (Methods of Organic Chemistry), Thieme-Verlag, Stuttgart, o Organic Reactions, John Wiley & Sons, New York. Si se desea, el compuesto de la fórmula (I) se puede purificar por procedimientos habituales de purificación, por ejemplo, por recristalización o cromatografía. Los compuestos de partida para la preparación del compuesto de la fórmula (I) están comercialmente disponibles o se pueden preparar de forma análoga o según procedimientos descritos en la bibliografía.

El compuesto según la fórmula (I) se puede usar para regular por aumento la expresión de la NO-sintasa endotelial y es un compuesto farmacéutico útil para el tratamiento de diferentes enfermedades. En el contexto de la presente invención, el tratamiento incluye la terapia así como la profilaxis de las respectivas enfermedades.

Ejemplos de enfermedades que se pueden tratar con el compuesto (I) según la presente invención incluyen enfermedades cardiovasculares como la angina de pecho estable o inestable, cardiopatía isquémica, angina de Prinzmetal (espasmo), síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, ictus, trombosis, enfermedad oclusiva de las arterias periféricas (PAOD), disfunción endotelial, aterosclerosis, restenosis, daños endoteliales después de PTCA, hipertensión que incluye la hipertensión esencial, hipertensión pulmonar e hipertensión secundaria (hipertensión renovascular, glomerulonefritis crónica), disfunción eréctil, arritmia ventricular, y la reducción del riesgo cardiovascular de las mujeres posmenopáusicas o después de la toma de anticonceptivos.

El compuesto (I) se puede usar adicionalmente en la terapia y profilaxis de la diabetes y complicaciones de la diabetes (nefropatía, retinopatía), angiogénesis, asma bronquial, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, osteoporosis, actividad restringida de la memoria o una capacidad restringida para aprender.

Las indicaciones preferidas son angina de pecho estable, cardiopatía isquémica, hipertensión, disfunción endotelial, aterosclerosis y complicaciones de la diabetes.

El compuesto según la fórmula (I) se puede usar también en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos, preferiblemente compuestos que son capaces de mejorar el efecto del compuesto según la fórmula (I). Ejemplos de tales com-

puestos incluyen: estatinas; inhibidores de la ACE; antagonistas de AT1; inhibidores de la arginasa; inhibidores de PDE V; antagonistas del calcio; alfa-bloqueantes; beta-bloqueantes; metimazol y compuestos análogos; arginina; tetrahidrobiopterina; vitaminas, en particular la vitamina C y vitamina B6; niacina.

5 El compuesto (I), opcionalmente en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos, se puede administrar a animales, preferiblemente a los mamíferos, y en particular a los humanos, como un producto farmacéutico propiamente dicho o en forma de preparaciones farmacéuticas. Objetivos adicionales de la presente invención son las preparaciones farmacéuticas (o composiciones farmacéuticas) que comprenden
10 una dosis efectiva del compuesto de la fórmula (I) y excipientes farmacéuticamente aceptables, esto es una o más sustancias excipientes y/o aditivos farmacéuticamente aceptables. Dicha preparación farmacéutica se usa para estimular la expresión de la NO-sintasa endotelial y en particular como un medicamento para la terapia y profilaxis de los síndromes mencionados antes.

15 El producto farmacéutico según la invención se puede administrar oralmente, por ejemplo, en forma de píldoras, comprimidos, comprimidos con película, comprimidos recubiertos con azúcar, gránulos, cápsulas de gelatina dura y blanda, soluciones acuosas, alcohólicas u oleosas, jarabes, emulsiones o suspensiones, o rectalmente, por ejemplo en forma de supositorios. La administración también se puede realizar parente-
20 ralmente, por ejemplo subcutáneamente, intramuscularmente o intravenosamente en forma de soluciones para inyección o infusión. Otras formas de administración adecuadas son, por ejemplo, la administración percutánea o tópica, por ejemplo en forma de pomadas, tinturas, pulverizaciones o sistemas terapéuticos transdérmicos, o la administración inhalativa en forma de pulverizaciones nasales o mezclas en aerosol, o por
25 ejemplo, microcápsulas, implantes o bastoncillos. La forma de administración preferida depende, por ejemplo, de la enfermedad a ser tratada y de su gravedad.

La cantidad del compuesto de la fórmula (I) en las preparaciones farmacéuticas normalmente varía de 0,2 a 800 mg, preferiblemente de 0,5 a 500 mg, en particular de 1 a 200 mg por dosis, pero dependiendo del tipo de preparación farmacéutica también
30 puede ser más alta. Las preparaciones farmacéuticas usualmente comprenden de 0,5 a 90 por ciento en peso del compuesto de la fórmula (I). La elaboración de las preparaciones farmacéuticas se puede realizar de una manera conocida *per se*. A este fin, el compuesto de la fórmula (I) junto con una o más sustancias excipientes farmacéuticos sólidos

25
25

dos o líquidos y/o aditivos (o sustancias auxiliares) y, si se desea, en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos que tienen acción terapéutica o profiláctica, se preparan en una forma de administración o forma farmacéutica adecuada que después se puede usar como un producto farmacéutico en medicina humana o veterinaria.

- 5 Para la producción de píldoras, comprimidos, comprimidos recubiertos con azúcar y cápsulas de gelatina dura, es posible usar, por ejemplo, lactosa, almidón, por ejemplo almidón de maíz, o derivados de almidón, talco, ácido esteárico o sus sales, etc. Los excipientes para las cápsulas de gelatina blanda y los supositorios son, por ejemplo, grasas, ceras, polioles semisólidos y líquidos, aceites naturales o endurecidos, etc. Los
- 10 excipientes adecuados para la preparación de soluciones, por ejemplo, de soluciones inyectables, o de emulsiones o jarabes, son por ejemplo, agua, solución fisiológica de cloruro de sodio, alcoholes tales como etanol, glicerol, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, manitol, aceites vegetales, etc. Es posible también liofilizar el compuesto de la fórmula (I) y utilizar los liofilizados resultantes, por ejemplo, para elaborar prepa-
- 15 raciones para inyección o infusión. Los excipientes adecuados para microcápsulas, implantes o bastoncillos, son por ejemplo, copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico.

Además del compuesto (I) y excipientes, las preparaciones farmacéuticas pueden contener también aditivos, por ejemplo agentes de carga, desintegrantes, aglutinantes, lubricantes, agentes humectantes, estabilizantes, emulsificantes, dispersantes, conser-

20 vantes, edulcorantes, colorantes, aromatizantes, espesantes, diluyentes, sustancias tampón, disolventes, solubilizantes, agentes para conseguir un efecto prolongado, sales para alterar la presión osmótica, agentes de recubrimiento o antioxidantes.

La dosis del compuesto de la fórmula (I) a ser administrada depende de cada caso individual y, como es habitual, tiene que ser adaptada a las circunstancias individua-

25 les para conseguir un efecto óptimo. Por tanto, depende de la naturaleza y gravedad del trastorno a ser tratado, y también del sexo, edad, peso y respuesta individual del ser humano o animal a ser tratado, de la duración de acción del compuesto (I), de si la terapia es aguda o crónica o profiláctica, o de si se administran otros compuestos activos además del compuesto de la fórmula (I). En general, una dosis diaria de aproximada-

30 mente 0,01 a 100 mg/kg, preferiblemente de 0,1 a 10 mg/kg, en particular de 0,3 a 5 mg/kg (en cada caso mg por kg de peso corporal) es apropiada para la administración a un adulto de aproximadamente 75 kg de peso para obtener los resultados deseados. La dosis diaria se puede administrar en una dosis única o, en particular cuando se adminis-

26
26

tran cantidades más grandes se puede dividir en varias, por ejemplo dos, tres o cuatro dosis individuales. En algunos casos, dependiendo de la respuesta individual, puede ser necesario desviarse hacia arriba o hacia abajo de la dosis diaria dada.

5 Los compuestos según la fórmula (I) se pueden usar también para otros propósitos distintos de los indicados anteriormente. Ejemplos no limitantes incluyen fines de diagnóstico, el uso como dispositivos bioquímicos, y como intermedios para la preparación de compuestos adicionales, por ejemplo, compuestos farmacéuticamente activos.

La presente invención se ilustrará ahora con el siguiente ejemplo:

Ejemplo:

10 **Preparación de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida**

Se mezclaron 43,70 g (258 mol) de hidrocloreuro de 2-aminoindano y 53,43 g (528 mmol) de trietilamina con 250 ml de tetrahidrofurano, se añadieron 42,89 g (270 mmol) de cloruro de 4-fluorobenzoilo, y se agitó la mezcla durante 2 h a temperatura ambiente.

15 La mezcla resultante se vertió entonces sobre una mezcla de hielo/HCl, se filtró el precipitado obtenido, se lavó con una solución de NaHCO₃ y agua y se secó en vacío. El producto crudo se cristalizó en metanol. Se obtuvieron 47,8 g (73 %) de un producto blanco cristalino.

Punto de fusión: 167 °C.

20 MS: M+H⁺: 256,1

¹H-NMR (300 MHz, d₆-DMSO): 2,96 (dd, 2H, H1/H3), 3,25 (dd, 2H, H3/H1), 4,70 (sexteto, 1H, H2), 7,12-7,19 (m, 2H, H4,7/5,6), 7,20-7,28 (m, 2H, H5,6/4,7), 7,30 (t, 2H, H3',5'), 7,95 (dd, 2H, H2',6'), 8,68 (d, 1H, NH).

Medida de la activación de la transcripción de la eNOS

25 La activación de la transcripción de la eNOS se midió como se describe en detalle en Li *et al.*, "Activation of protein kinase C alpha and/or epsilon enhances transcription of the human endothelial nitric oxide synthase gene", Mol. Pharmacol. 1998; 53: 630-637.

30 Brevemente, un fragmento 5' de una longitud de 3,5 kB del codón inicial del gen de eNOS fue clonado, secuenciado y clonado en plásmidos de expresión de la luciferasa de luciérnaga para verificar la activación del promotor de la eNOS por la actividad del gen indicador. Para el ensayo del compuesto se usó una línea de células endoteliales humanas estable, transfectada, y que expresa esta estructura artificial de promotor-

indicador. Las células se incubaron durante 18 h con el compuesto (I).

Previamente se disolvió el compuesto en DMSO estéril. Se dejó una concentración final de 0,5 % de DMSO en medio completo. Se midió la inducción de la expresión del gen indicador en estas células usando un sistema estándar de ensayo de la luciferasa (Promega, Cat. No E150) según las instrucciones del fabricante. La inducción de la luciferasa en las células incubadas con el compuesto (I) se comparó con la de las células incubadas con disolvente solo. La relación de ambas actividades (relación transcripción-inducción, TIR) se representó como una función de la concentración del compuesto. Típicamente, los valores TIR empezaron a concentraciones bajas en una relación de 1, lo que indica que no hay ningún efecto del compuesto, y se extendieron hasta un valor máximo de TIR, TIR(max) que indica el incremento de la transcripción de la eNOS. Los valores EC₅₀ de las relaciones transcripción-inducción como una función de la concentración del compuesto, se determinaron gráficamente.

El efecto del compuesto (I) sobre la transcripción de la eNOS se confirmó en un segundo ensayo basado en la detección de la proteína eNOS. Se aislaron y se cultivaron siguiendo procedimientos estándar las células primarias endoteliales de la vena del cordón umbilical humano (HUVEC). Se incubaron las células confluentes con el compuesto (I) durante 18 h y se determinó el efecto sobre la expresión de la proteína eNOS por medio de un procedimiento cuantitativo de transferencia Western. Después de la incubación del compuesto (I), se lisaron las HUVEC en una solución tampón de lisis enfriada en hielo que contiene Tris-HCl 10 mM, pH 8,0, 1 % de SDS e inhibidores de la proteasa. Se sometió el lisado a una electroforesis estándar en gel de poliacrilamida desnaturante y se transfirió a membranas de nitrocelulosa. Usando un anticuerpo monoclonal específico primario (Transduction Laboratories, UK) y un anticuerpo secundario marcado con fosfatasa alcalina (Jackson Labs), se observó una pista específica de la proteína eNOS y se cuantificó basándose en un método de detección por quimiofluorescencia.

Para el compuesto (I), el valor de EC₅₀ fue 0,8 μ M y el valor de TIR(max) fue 4,10.

30 Modelos animales

Todos los experimentos en animales se realizaron de acuerdo con la ley alemana de protección a los animales y con las directrices para la utilización de animales de experimentación dadas por la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the

US National Institutes of Health.

Animales y tratamiento (experimentos A-C)

Se utilizaron ratones deficientes en apolipoproteína E (ApoE) y en eNOS (antecedentes C57BL/6J, Jackson Laboratory, Bar Harbor, Me). Todos los animales tenían 10-12 semanas de edad y pesaban de 22 a 28 g. Tres días antes de la cirugía se dividieron los ratones en 4 grupos (apoE testigo, n= 10-12; apoE con el compuesto (I), n= 10-12; eNOS testigo, n= 10-12; eNOS con el compuesto (I), n= 10-12) y recibieron o un alimento estándar para roedores (que contiene 4 % de grasa y 0,001 % de colesterol; en el siguiente grupo denominado grupo placebo) o un alimento estándar para roedores + compuesto (I) (10 o 30 mg/kg/día/p.o.).

A. Efecto antihipertensivo en ratones con falta de ApoE

Se determinó la presión sanguínea en ratones conscientes usando un sistema, regido por ordenador, de manguito en la cola.

Para el compuesto (I), después de 4 meses de tratamiento de los ratones deficientes en ApoE, la presión sanguínea se redujo significativamente ($p < 0,05$) en el grupo de 30 mg/kg/día en comparación con el tratamiento placebo (92 ± 5 mm de Hg frente a 115 ± 2 mm de Hg). No se pudo observar ninguna reducción de la presión sanguínea a dosis similares en los ratones deficientes en eNOS después de 4 semanas de tratamiento.

B. Inhibición de la formación de la neointima y aterogénesis (manguito en la arteria femoral)

Después de 3 días de tratamiento de los ratones deficientes en ApoE con el compuesto (I) (10 mg/kg/día prensado en el pienso), se anestesiaron los animales con una inyección intraperitoneal de pentobarbital (60 mg/kg) seguida por una inyección intramuscular de xilazina (2 mg/kg) y se colocó un manguito alrededor de la arteria femoral como se describe en Moroi *et al.*, (J. Clin. Invest. 101: 1225-32, 1998). Brevemente, se disecó la arteria femoral izquierda. Se colocó alrededor de la arteria un manguito no oclusivo de polietileno de 2,0 mm hecho con tubo de PE-50 (diámetro interior 0,56 mm, diámetro exterior 0,965 mm, Becton Dickinson, Mountain View, Ca) y se sujetó en el sitio con dos suturas 7-0. Se aisló la arteria femoral derecha de los tejidos circundantes pero no se colocó ningún manguito. Se continuó el tratamiento con el compuesto (I) durante 14 días después de la cirugía. A continuación se sacrificaron los animales. Se tomaron las aortas para la determinación de la expresión de la eNOS vascular por medio de análisis cuantitativo de transferencia Western. Se recogieron ambas arterias femora-

les, se fijaron en formalina y se incluyeron en parafina. Se cortaron 20 secciones transversales (10 μ m) de la porción con manguito de la arteria femoral izquierda y del correspondiente segmento de la arteria derecha. Se sometieron las secciones a una tinción estándar con hematoxilina y eosina. Se realizaron análisis morfométricos usando un programa de ordenador para análisis por la imagen (LeicaQWin, Leica Imaging Systems, Cambridge, GB). En cada sección transversal se determinaron las áreas del lumen, de la neoíntima y de la media. A este fin, se definió la neoíntima como el área entre el lumen y la lámina elástica interna y se definió la media como el área entre la lámina elástica interna y la externa. La relación entre el área de la neoíntima y el área de la media se expresó como la relación neoíntima/media.

El compuesto (I) dividió por un factor de 2 la formación con adaptación insuficiente de la neoíntima, disminuyendo la relación de la neoíntima a la media desde $0,39 \pm 0,07$ en el grupo placebo hasta $0,170 \pm 0,04$ en el grupo del compuesto. En paralelo, se multiplicó por un factor de 2,1 la expresión de la eNOS vascular. No se pudo demostrar ningún efecto del compuesto (I) en circunstancias similares usando ratones deficientes en eNOS en lugar de ratones con falta de ApoE.

C. Prevención de la formación de la placa aterosclerótica en el tratamiento crónico

Los ratones deficientes en ApoE se trataron durante 16 semanas con el compuesto (I) prensado en el pienso y finalmente se sacrificaron. Se separaron las aortas de cada ratón, se fijaron en formalina y se incluyeron en parafina. Se midió la formación de la placa a través de la formación de lesiones lipídicas en las aortas (desde el arco aórtico hasta el diafragma) y se analizó por tinción con rojo O en aceite. Para cuantificar el efecto del compuesto respectivo sobre la expresión de la eNOS vascular se usaron las arterias femorales en este experimento.

El compuesto (I) según la presente invención redujo significativamente la formación de placa ($5,2 \pm 1$ % frente a $13,3 \pm 2,6$ del grupo placebo, valores dados en el tamaño global de la placa como % de la superficie total). Se encontró que la expresión de la eNOS vascular había aumentado 1,75 veces en el grupo de tratamiento.

D. Mejora de la función coronaria en ratones enfermos deficientes en ApoE

Se utilizaron en los experimentos ratones viejos machos naturales C57BL/6J, (Charles River Wiga GmbH, Sulzfeld), y ratones deficientes en ApoE (antecedentes C57BL/6J, Jackson Laboratory, Bar Harbor, Me) de 6 meses de edad y con un peso de 28 a 36 g. Se dividieron los ratones en 3 grupos (C57BL/6, n=8; apoE testigo, n=8;

apoE con el compuesto (I), n=8) y recibieron durante 8 semanas o un alimento estándar para roedores (que contiene 4 % de grasa y 0,001 % de colesterol) o un alimento estándar para roedores + compuesto (I) (30 mg/kg/día/p.o.).

Se anestesiaron los ratones con pentobarbitona de sodio (100 mg/kg, i.p.), y se
5 extirparon rápidamente los corazones y se pusieron en una solución tampón para perfusión enfriada en hielo. Se canuló la aorta y se conectó a un aparato de perfusión (HUGO SACHS ELECTRONICS, Freiburg, Germany) que se puso inmediatamente en funcionamiento a una presión constante de perfusión de 60 mm de Hg. Se perfundieron los
10 corazones de una forma retrógrada con solución tampón de bicarbonato de Krebs modificada, equilibrada con 95 % de O₂ y 5 % de CO₂ y mantenida a 37,5 °C.

Se pasó un pequeño tubo (PE 50) biselado a lo largo de una vena pulmonar hasta el ventrículo izquierdo y se arrastró el mismo a lo largo de la pared ventricular, se ancló en el vértice por un extremo acanalado, y se conectó a una punta de un micromanómetro (Millar 1,4 French). La aurícula izquierda se canuló a través de la misma vena pulmonar
15 y se cambió el corazón al modo de trabajo con una presión constante de precarga de 10 mm de Hg y una presión después de carga de 60 mm de Hg. El caudal aórtico de salida y el caudal auricular de entrada se midieron continuamente usando sondas ultrasónicas de caudal (HSE/Transonic Systems Inc.). El caudal coronario se calculó como la diferencia entre el caudal auricular y el caudal aórtico. Todos los datos hemodinámicos se
20 digitalizaron a una velocidad de muestreo de 1000 Hz y se registraron con un PC utilizando un programa informático especializado (HEM, Notocord).

Se dejaron estabilizar los corazones durante 30 min. Todos los datos hemodinámicos funcionales se midieron durante el estado de equilibrio, y durante la carga de volumen y presión.

25 Las curvas de la función ventricular izquierda se construyeron variando la presión de pre-carga. Para la adquisición de las curvas de pre-carga, se fijó la post-carga a 60 mm de Hg y la pre-carga se ajustó a pasos de 5 mm de Hg a lo largo de un intervalo de 5 a 25 mm de Hg. Se dejaron estabilizar los corazones en las condiciones de la línea base entre la carga de presión y volumen.

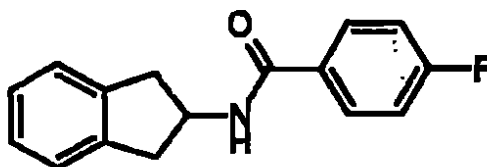
30 Los corazones aislados de los animales deficientes en ApoE presentaron un caudal coronario más bajo en estas circunstancias en comparación con los ratones naturales C57B16 (3,6 ml/min frente a 4,95 ml/min). El tratamiento de los animales deficientes en ApoE con el compuesto (I) según la presente invención aumentó el caudal coronario

- 13 -

hasta 5 ml/min comparable a los niveles de los ratones naturales no enfermos. El compuesto (I) mejoró también el caudal coronario dependiente de la precarga y redujo la incidencia de las arritmias ventriculares como un indicador de la eficacia anti-isquémica.

REIVINDICACIONES

1. El uso de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida según la fórmula (I)



(I)

5 para la fabricación de un medicamento para la estimulación de la expresión de la NO-sintasa endotelial.

2. El uso de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, angina de pecho estable o inestable, cardiopatía isquémica, angina de Prinzmetal, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, ictus, trombosis, enfermedad oclusiva de las
10 arterias periféricas, disfunción endotelial, aterosclerosis, restenosis, daños endoteliales después de PTCA, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión secundaria, hipertensión renovascular, glomerulonefritis crónica, disfunción eréctil, arritmia ventricular, diabetes o complicaciones de la diabetes, nefropatía, retinopatía,
15 angiogénesis, asma bronquial, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, osteoporosis, actividad restringida de la memoria, una capacidad restringida para aprender, o para la reducción del riesgo cardiovascular de las mujeres posmenopáusicas o después de la toma de anticonceptivos.

3. El uso según las reivindicaciones 1 ó 2, donde el medicamento es para el tratamiento de la disfunción endotelial, hipertensión, cardiopatía isquémica, angina de pecho estable, complicaciones de la diabetes o aterosclerosis.

4. Una preparación farmacéutica para la estimulación de la expresión de la NO-sintasa endotelial, que comprende una dosis efectiva de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida y excipientes farmacéuticamente aceptables.

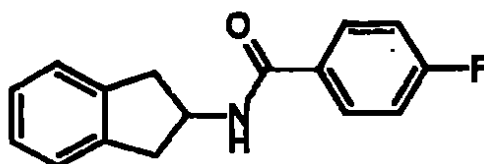
25 5. Una preparación farmacéutica para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, angina de pecho estable o inestable, cardiopatía isquémica, angina de Prinzmetal, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, ictus, trombosis, enfermedad oclusiva de las arterias periféricas, disfunción endotelial, aterosclerosis, restenosis, daños endoteliales después de PTCA, hipertensión, hipertensión esencial,
30 hipertensión pulmonar, hipertensión secundaria, hipertensión renovascular, glomerulonefritis crónica, disfunción eréctil, arritmia ventricular, diabetes o complicaciones de la

diabetes, nefropatía, retinopatía, angiogénesis, asma bronquial, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, osteoporosis, actividad restringida de la memoria, una capacidad restringida para aprender, o para la reducción del riesgo cardiovascular de las mujeres posmenopáusicas o después de la toma de anticonceptivos, comprendiendo dicha preparación una dosis efectiva de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida y excipientes farmacéuticamente aceptables.

6. Una preparación farmacéutica según las reivindicaciones 4 ó 5, cuya preparación farmacéutica está en la forma de píldoras, comprimidos, comprimidos con película, comprimidos recubiertos con azúcar, gránulos, cápsulas de gelatina dura y blanda, solución acuosa, alcohólica u oleosa, jarabe, emulsión o suspensión, supositorios, solución para inyección o infusión, pomada, tintura, pulverización, sistema terapéutico transdérmico, pulverización nasal, mezcla en aerosol, microcápsulas, implantes o bastoncillos.

REIVINDICACIONES

1. El uso de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida según la fórmula (I)



(I)

5 para la fabricación de un medicamento para la estimulación de la expresión de la NO-sintasa endotelial.

2. El uso de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, angina de pecho estable o inestable, cardiopatía isquémica, angina de Prinzmetal, síndrome coronario
10 agudo, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, trombosis, enfermedad oclusiva de las arterias periféricas, disfunción endotelial, aterosclerosis, restenosis, daños endoteliales después de PTCA, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión secundaria, hipertensión renovascular, glomerulonefritis crónica, disfunción eréctil, arritmia ventricular, diabetes o complicaciones de la
15 diabetes, nefropatía, retinopatía, angiogénesis, asma bronquial, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, osteoporosis o para la reducción del riesgo cardiovascular de las mujeres posmenopáusicas o después de la toma de anticonceptivos.

3. El uso según las reivindicaciones 1 ó 2, donde el medicamento es para el tratamiento de la disfunción endotelial, hipertensión, cardiopatía isquémica, angina de
20 pecho estable, complicaciones de la diabetes o aterosclerosis.

4. Una preparación farmacéutica para la estimulación de la expresión de la NO-sintasa endotelial, que comprende una dosis efectiva de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida y excipientes farmacéuticamente aceptables.

5. Una preparación farmacéutica para el tratamiento de enfermedades
25 cardiovasculares, angina de pecho estable o inestable, cardiopatía isquémica, angina de Prinzmetal, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, trombosis, enfermedad oclusiva de las arterias periféricas, disfunción endotelial, aterosclerosis, restenosis, daños endoteliales después de PTCA, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión secundaria, hipertensión

- renovascular, glomerulonefritis crónica, disfunción eréctil, arritmia ventricular, diabetes o complicaciones de la diabetes, nefropatía, retinopatía, angiogénesis, asma bronquial, insuficiencia renal crónica, cirrosis hepática, osteoporosis o para la reducción del riesgo cardiovascular de las mujeres posmenopáusicas o después de la toma de
- 5 anticonceptivos, comprendiendo dicha preparación una dosis efectiva de 4-fluoro-N-indan-2-il-benzamida y excipientes farmacéuticamente aceptables.
6. Una preparación farmacéutica según las reivindicaciones 4 ó 5, cuya preparación farmacéutica está en la forma de píldoras, comprimidos, comprimidos con película, comprimidos recubiertos con azúcar, gránulos, cápsulas de gelatina dura y blanda,
- 10 solución acuosa, alcohólica u oleosa, jarabe, emulsión o suspensión, supositorios, solución para inyección o infusión, pomada, tintura, pulverización, sistema terapéutico transdérmico, pulverización nasal, mezcla en aerosol, microcápsulas, implantes o bastoncillos.

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

PCT/EP 0 2 / 0 1 4 4 3
International Application No.

12 FEB 2002

(12 02 02)

International Filing Date

EUROPEAN PATENT OFFICE
PCT INTERNATIONAL APPLICATION

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference
(if desired) (12 characters maximum) APD61814PC

Box No. I TITLE OF INVENTION

4-Fluoro-N-indan-2-yl benzamide and its use as pharmaceutical

Box No. II APPLICANT

☐ This person is also inventor

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence (if no State of residence is indicated below.)

Aventis Pharma Deutschland GmbH
Brüningstrasse 5065926 Frankfurt am Main
DETelephone No.
069/305-0Facsimile No.
069/357175

Teleprinter No.

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:
DEState (that is, country) of residence:
DEThis person is applicant
for the purposes of:☒ all designated
States☐ all designated States except
the United States of America☐ the United States
of America only☐ the States indicated in
the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence (if no State of residence is indicated below.)

WOHLFART, Paulus
Bertolt-Brecht-Ring 16c
64625 Bensheim

DE

This person is:

☐ applicant only☐ applicant and inventor☒ inventor only (if this check-box
is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

DE

State (that is, country) of residence:

DE

This person is applicant
for the purposes of:☐ all designated
States☐ all designated States except
the United States of America☐ the United States
of America only☐ the States indicated in
the Supplemental Box☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf
of the applicant(s) before the competent International Authorities as:☒ agent☐ common
representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

ISENBRUCK, Günter
Patent- und Rechtsanwälte
Bardhele Pagenberg Dost
Altenburg Geissler Isenbruck
Theodor-Hauss-Anlage 12
68165 Mannheim, DETelephone No.
0621/42271-0Facsimile No.
0621/42271-31

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

SUZUKI, Teri
1509 N. Blacklawn Ave.
Tucson, AZ 85745

USA

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

USA

State (that is, country) of residence:

USA

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

DHARANIPRAGADA, Ramalinga M
805 Taggart Dr, Belle Mead
NJ 08502-6413

USA

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

USA

State (that is, country) of residence:

USA

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

SAFAROVA, Alena
12431 N. Forest Lake Way
Tucson, AZ 85737

USA

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

USA

State (that is, country) of residence:

USA

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

WALSER, Armin
5900 N. Camino Miraval
Tucson, AZ 85718

USA

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

USA

State (that is, country) of residence:

USA

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

STROBEL, Hartmut
Erlenweg 22
65835 Liederbach

DE

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

DE^A

State (that is, country) of residence:

DE^A

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Box No. V DESIGNATION OF STATES

Mark the applicable check-boxes below; at least one must be marked.

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a):

Regional Patent

- ☒ AP ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mozambique, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ United Republic of Tanzania, UG Uganda, ZM Zambia, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)
- ☒ EA Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH & LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, TR Turkey, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GQ Equatorial Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- | | | |
|---|--|--|
| ☒ AE United Arab Emirates | ☒ GM Gambia | ☒ NZ New Zealand |
| ☒ AG Antigua and Barbuda | ☒ HR Croatia | ☒ OM Oman |
| ☒ AL Albania | ☒ HU Hungary | ☒ PH Philippines |
| ☒ AM Armenia | ☒ ID Indonesia | ☒ PL Poland |
| ☒ AT Austria | ☒ IL Israel | ☒ PT Portugal |
| ☒ AU Australia | ☒ IN India | ☒ RO Romania |
| ☒ AZ Azerbaijan | ☒ IS Iceland | ☒ RU Russian Federation |
| ☒ BA Bosnia and Herzegovina | ☒ JP Japan | |
| ☒ BB Barbados | ☒ KE Kenya | ☒ SD Sudan |
| ☒ BG Bulgaria | ☒ KG Kyrgyzstan | ☒ SE Sweden |
| ☒ BR Brazil | ☒ KP Democratic People's Republic of Korea | ☒ SG Singapore |
| ☒ BY Belarus | ☒ KR Republic of Korea | ☒ SI Slovenia |
| ☒ BZ Belize | ☒ KZ Kazakhstan | ☒ SK Slovakia |
| ☒ CA Canada | ☒ LC Saint Lucia | ☒ SL Sierra Leone |
| ☒ CH & LI Switzerland and Liechtenstein | ☒ LK Sri Lanka | ☒ TJ Tajikistan |
| ☒ CN China | ☒ LR Liberia | ☒ TM Turkmenistan |
| ☒ CO Colombia | ☒ LS Lesotho | ☒ TN Tunisia |
| ☒ CR Costa Rica | ☒ LT Lithuania | ☒ TR Turkey |
| ☒ CU Cuba | ☒ LU Luxembourg | ☒ TT Trinidad and Tobago |
| ☒ CZ Czech Republic | ☒ LV Latvia | |
| ☒ DE Germany | ☒ MA Morocco | ☒ TZ United Republic of Tanzania |
| ☒ DK Denmark | ☒ MD Republic of Moldova | ☒ UA Ukraine |
| ☒ DM Dominica | ☒ MG Madagascar | ☒ UG Uganda |
| ☒ DZ Algeria | ☒ MK The former Yugoslav Republic of Macedonia | ☐ US United States of America |
| ☒ EC Ecuador | ☒ MN Mongolia | ☒ UZ Uzbekistan |
| ☒ EE Estonia | ☒ MW Malawi | ☒ VN Viet Nam |
| ☒ ES Spain | ☒ MX Mexico | ☒ YU Yugoslavia |
| ☒ FI Finland | ☒ MZ Mozambique | ☒ ZA South Africa |
| ☒ GB United Kingdom | ☒ NO Norway | ☒ ZM Zambia |
| ☒ GD Grenada | | ☒ ZW Zimbabwe |
| ☒ GE Georgia | | |
| ☒ GH Ghana | | |

Check-boxes below reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

- | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| ☐ | ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ | ☐ |

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation (including fees) must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

Ad/Er

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains:

(a) the following number of sheets in paper form:

request (including declaration sheets) : 6

description (excluding sequence listing part) : 12

claims : 2

abstract : 1

drawings : _____

Sub-total number of sheets : 21

sequence listing part of description (actual number of sheets if filed in paper form, whether or not also filed in computer readable form; see (b) below) : _____

Total number of sheets : 21

(b) sequence listing part of description filed in computer readable form

(i) ☐ only (under Section 801(a)(i))(ii) ☐ in addition to being filed in paper form (under Section 801(a)(ii))

Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which the sequence listing part is contained (additional copies to be indicated under item 9(ii), in right column):

.....

This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item):

1. ☒ fee calculation sheet : 1
2. ☐ original separate power of attorney :
3. ☐ original general power of attorney :
4. ☐ copy of general power of attorney, reference number, if any: :
5. ☐ statement explaining lack of signature :
6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s): :
7. ☐ translation of international application into (language): :
8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material :
9. ☐ sequence listing in computer readable form (indicate also type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other))
 - (i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application) :
 - (ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (b)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter :
 - (iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing part mentioned in left column :
10. ☐ other (specify): :

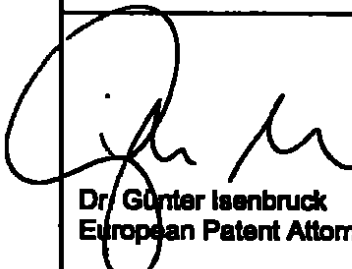
Number of items

Figure of the drawings which should accompany the abstract:

Language of filing of the international application: English

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).



Dr. Günter Isenbruck
European Patent Attorney

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:

(12 02 02)

12 FEB 2002

3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:

4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):

5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /

6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

2. Drawings:

☐ received:☐ not received:

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

ISENBRUCK, Günter.
Patent- und Rechtsanwälte Isenbruck | Bösl | Hörecher |
Bardehle Pagenberg Dost Wichmann | Huhn, Patentanwälte
Theodor-Heuss-Anlage 12 Theodor-Heuss-Anlage 12
68185 Mannheim D-68185 Mannheim

31. März 2003

Frist: 30.04.03
Vorfrist: not do

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT
(PCT Rule 71.1)

96 →

B1	1B
B2	ACW
B3	
Self	1B
EDV	
Abtg.	

Applicant's or agent's file reference APD61814PC/rg		Date of mailing (day/month/year) 27.03.2003	
International application No. PCT/EP02/01443		International filing date (day/month/year) 12/02/2002	Priority date (day/month/year) 13/02/2001
Applicant AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH			

IMPORTANT NOTIFICATION

- The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
- A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
- Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

For the purpose of deciding whether the claimed invention is patentable or not, the elected Offices may apply criteria additional to or different from the criteria on which the international preliminary examination report is based (see Articles 27(5), 33(5)). Additional criteria may include e.g. exemptions from patentability and the requirements of enabling disclosure and of clarity and support of claims.

Name and mailing address of the IPEA/ European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399-0 Tlx: 523858 epmu d Fax: +49 89 2399-4465	Authorized officer Polenzani, S Tel. +49 89 2399-7812
---	---



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference APD81814PC/rg		FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/EP02/01443	International filing date (day/month/year) 12/02/2002	Priority date (day/month/year) 13/02/2001	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K31/88			
Applicant AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH			
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet. ☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of 2 sheets.			
3. This report contains indications relating to the following items: - I ☒ Basis of the report - II ☐ Priority - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability - IV ☐ Lack of unity of invention - V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement - VI ☐ Certain documents cited - VII ☐ Certain defects in the international application - VIII ☐ Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 13/09/2002		Date of completion of this report 27.03.2003	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80289 Munich Tel. +49 89 23699 - 0 Tx: 523655 epmu d Fax: +49 89 23699 - 4465		Authorized officer Pilling, S Telephone No. +49 89 2369 8461 	

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/EP02/01443

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17):*

Description, pages:

1-12 as originally filed

Claims, No.:

1-6 as received on 30/01/2003 with letter of 30/01/2003

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP02/01443

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	2,3
	No:	Claims	1,4-6
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	2,3
	No:	Claims	1,4-6
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-6
	No:	Claims	

**2. Citations and explanations
see separate sheet**

Re Item V**Reasoned statement under Rule 68.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

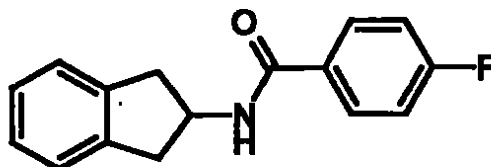
1. Documents D1 and D2 are referred to in this communication; this designation results from the order of citation found in the search report and will be adhered to in the rest of the procedure.
2. With reference to the comments below, the following observations concerning present construction of the claims by the IPEA are relevant:
 - (a) Claim 1 is directed towards the use of FIB for the manufacture of a medicament for the stimulation of the expression of endothelial NO synthase. It is considered, however, that the diseases encompassed by this latter definition are unclear thereby rendering the scope of this claim also unclear (Article 6 PCT).
 - (b) Claims 4 to 6 are directed towards pharmaceutical compositions comprising FIB (rather than, for example, uses/methods).
3. Document D1 (WO-A-0051970) discloses previous pharmaceutical compositions comprising FIB (c.f. present Claims 4 to 6). Furthermore, these compositions are disclosed to be useful for the treatment of diseases including stroke and amnesia/dementia/autism (see page 1 line 16 to page 2 line 2, page 12 lines 8 to 20 and Example 17 therein). As far as can presently be determined and on the basis of the present description (see the reference to "stroke" at present page 5 line 26 and the reference to "restricted memory performance or a restricted ability to learn" at present page 5 lines 35 to 36), it appears that stroke/ amnesia/ dementia/ autism would be treatable via stimulation of the expression of endothelial NO synthase (c.f. the definition in present Claim 1). Thus, the subject matter of Claims 1 and 4 to 6 is not new in view of the disclosure of document D1 (Article 33(2) PCT).
4. Although the definitions of "*endothelial dysfunction*" and "*diabetes complications*" in Claims 2 and 3 are vague, as far as can presently be determined, it appears that none of the cited documents clearly discloses the use of FIB to treat the

particular diseases listed in Claims 2 and 3. Hence, the subject matter of Claims 2 and 3 is considered to be new.

5. The following comments are relevant to inventive step of Claims 2 and 3; none of the prior art documents appears to disclose or point towards the use of FIB or similar to stimulate the expression of endothelial NO synthase. Moreover, although the definitions of "*endothelial dysfunction*" and "*diabetes complications*" in Claims 2 and 3 are vague, as far as can presently be determined, it appears that none of the prior art documents discloses or point towards the use of FIB or similar to treat any of the diseases listed in Claims 2 and 3. With reference to document D1, this document merely discloses that FIB has a cholinergic effect but this cholinergic effect would not seem to clearly lead the skilled man toward treatment of any of the diseases listed in Claims 2 and 3. Hence, the subject matter of Claims 2 and 3 is considered to be inventive.

New set of claims:

1. The use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide according to the formula (I)



(I)

for the manufacture of a medicament for the stimulation of the expression of endothelial NO synthase.

2. The use of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide for the manufacture of a medicament for the treatment of cardiovascular diseases, stable or unstable angina pectoris, coronary heart disease, Prinzmetal angina, acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, thrombosis, peripheral artery occlusive disease, endothelial dysfunction, atherosclerosis, restenosis, endothel damage after PTCA, hypertension, essential hypertension, pulmonary hypertension, secondary hypertension, renovascular hypertension, chronic glomerulonephritis, erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, diabetes or diabetes complications, nephropathy, retinopathy, angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, osteoporosis, or the lowering of cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptiva.
3. The use according to claim 1 or 2, wherein the medicament is for the treatment of endothelial dysfunction, hypertension, coronary heart disease, stable angina pectoris, diabetes complications or atherosclerosis.
4. A pharmaceutical preparation for the stimulation of the expression of endothelial NO synthase comprising an effective dose of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide and a pharmaceutically acceptable carrier.

AMENDED SHEET

5. A pharmaceutical preparation for the treatment of cardiovascular diseases, stable or unstable angina pectoris, coronary heart disease, Prinzmetal angina, acute coronary syndrome, heart failure, myocardial infarction, thrombosis, peripheral artery occlusive disease, endothelial dysfunction, atherosclerosis, restenosis, endothel damage after PTCA, hypertension, essential hypertension, pulmonary hypertension, secondary hypertension, renovascular hypertension, chronic glomerulonephritis, erectile dysfunction, ventricular arrhythmia, diabetes or diabetes complications, nephropathy, retinopathy, angiogenesis, asthma bronchiale, chronic renal failure, cirrhosis of the liver, osteoporosis, or the lowering of cardiovascular risk of postmenopausal women or after intake of contraceptiva, said preparation comprising an effective dose of 4-fluoro-N-indan-2-yl benzamide and a pharmaceutically acceptable carrier.
6. A pharmaceutical preparation according to claim 4 or 5, which pharmaceutical preparation is in the form of a pill, tablet, lacquered tablet, sugar-coated tablet, granule, hard or soft gelatin capsule, aqueous, alcoholic or oily solution, syrup, emulsion or suspension, suppository, solution for injection or infusion, ointment, tincture, spray, transdermal therapeutic system, nasal spray, aerosol mixture, microcapsule, implant or rod.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicación : 03060410 00000000
 Fecha (HH): 2003-08-11 14:21:10
 Folios: 49
 Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INCI 411 PRESENTAC
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓		
MODELO DE UTILIDAD	()	()
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
- Descripción de la invención.	()	()
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable:

ANDREA POSSE

Fecha: