

G. HOLLMANN RESTREPO
ABOGADOS LTDA.

195 195

Señora

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo Industria y Turismo

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. S. D.

ACIONE
ONALII

Ref.: Expediente No. 03.088.391

Solicitud de Patente PCT entrada fase nacional para: **DERIVADOS DE
MERCAPTOACETILAMIDA, PROCEDIMIENTO PARA SU PREPARACION Y SU USO**

Solicitante: **SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

LUIS PATIÑO LEIVA, mayor de edad, identificado y domiciliado como aparece al pie de mi firma, en atención a su oficio No. 12595 Notificado el 5 de octubre de 2007, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

En primer lugar, presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 9 reivindicaciones que reemplaza el pliego anterior compuesto por 16 reivindicaciones.

Sustento Descriptivo

En cuanto al sustento descriptivo, pongo de presente a su Despacho que en el concepto técnico No. 0706 no se objetó el sustento descriptivo de la presente solicitud de tal manera que no se entiende esta nueva objeción. Sin embargo, procederé a demostrar que la presente invención si tiene sustento descriptivo.

A lo largo de la descripción se hace clara alusión al estado de la técnica, al sumario de la invención, descripción detallada de la invención, ejemplos de síntesis de la invención y parte experimental con sus respectivos ejemplos, métodos biológicos y resultados todo con el fin de sustentar la presente invención de tal manera que nuestro apoderado no entiende en que se basa

vacuo and purify by silica gel chromatography to give the title compound.

EXAMPLE 62

Preparation of [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-thio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-hexahydro-6-oxo-1H-[1,4]-azazino[3,4-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid

Dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-hexahydro-6-oxo-1H-[1,4]-azazino[3,4-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid (42mg, 0.093mmol) in tetrahydrofuran/methanol (1:1, 4mL) and sparge with nitrogen for 10 minutes at 0° C. Add, by dropwise addition over 4 hours, a solution of lithium hydroxide (0.249mL of a 1M solution of lithium hydroxide degassed using the freeze-thaw technique). Stir at 0° C. for 7 hours, treat with 1N hydrochloric acid (0.5mL) at 0° C. and evaporate the solvent in vacuo. Purify by silica gel chromatography to give the title compound.

EXAMPLE 63

Preparation of [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-hexahydro-6-oxo-1H-[1,4]-N⁴-trifluoroacetylazazino[3,4-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester

Dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-thio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-hexahydro-6-oxo-1H-[1,4]-azazino[3,4-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid (979mg, 2.27mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (15mL). Treat with pyridine (183 μ L, 2.27mmol) followed by trifluoroacetic anhydride (321 μ L, 2.27mmol) and stir at room temperature overnight. Partition between ethyl ether and water. Separate the organic phase, dry (MgSO₄) and evaporate the solvent in vacuo. Purify by silica gel chromatography to give the title compound.

EXAMPLE 64

[6 α (R*) 11b β]-6-[(S)-(1Oxo-2(R)-benzoylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,5,6,7,11b-heptahydro-5-oxopyrrolo[2,1-a][2]benzazepine-3(S)-carboxylic acid, methyl ester

Scheme H, step a: N-(Phenylmethylene)-2-(3-butenyl)glycine methyl ester

Dissolve diisopropylamine (15.4mL, 110mmol) in tetrahydrofuran (250mL), place under a nitrogen atmosphere and cool to -78° C. Add n-butyllithium (39mL of a 2.7M solution in hexane, 105mmol). Stir for 30 minutes and add, by dropwise addition, a solution of N-(phenylmethylene)glycine methyl ester (17.7g, 100mmol) in tetrahydrofuran (25mL). Stir for 15 minutes and add 4-bromobutene (13.5g, 100mmol) and allow to warm slowly to room temperature. Add hexamethylphosphoramide (20mL, 100mmol) and stir under a nitrogen atmosphere for 3 hours. Pour into water, extract into ethyl ether and wash with brine several times. Dry (MgSO₄) and evaporate the solvent in vacuo to give the title compound as an amber oil (25g).

Scheme H, step b: 2-(3-Butenyl)glycine methyl ester

Dissolve N-(phenylmethylene)-2-(3-butenyl)glycine methyl ester (25g) in ethyl ether (400mL) and stir with 1N hydrochloric acid (150mL) and water (150mL). Place under an argon atmosphere and stir for 2 hours. Separate the aqueous phase and adjust to pH 9, extract

into chloroform, dry and evaporate the solvent in vacuo to give the title compound as a light oil (4.5g).

Scheme H, step c: (S)-N-[2-(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropyl]-2-(3-butenyl)-glycine, methyl esters

Dissolve N-phthaloyl-(S)-phenylalanine (2) (6.0g, 20mmol) and EEDQ (6.0g, 24mmol) in methylene chloride (30mL). Add 2-(3-butenyl)glycine methyl ester (3.0g, 21mmol) and stir for 18 hours. Pour into methylene chloride, wash with 10% hydrochloric acid then saturated sodium hydrogen carbonate. Dry and evaporate the solvent in vacuo to give 8.3g yellow oil. Purify by silica gel chromatography (25% ethyl acetate/hexane) to give a diastereomeric mixture of the title compounds as foam (5.2g).

Scheme H step d: (S)-N-[2-(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-phenylalanyl]-2-(3-oxopropyl)glycine, methyl esters

Dissolve the diastereomeric mixture of (S)-N-[2-(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropyl]-2-(3-butenyl)-glycine, methyl esters (4.2g, 10mmol) in methylene chloride (100mL) and absolute methanol (10mL). Cool to -78° C. and treat with ozone until blue. Degas with nitrogen and add methyl sulfide (10mL) and pyridine (0.5mL). Allow to warm slowly to room temperature and stir for 18 hours. Wash with 10% hydrochloric acid then brine. Dry and evaporate the solvent in vacuo to give a diastereomeric mixture of the title compounds as an oil (4.5g).

Scheme A, step d: (S)-N-[2-(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-1-oxo-3-phenylpropyl-1,2,3-trihydro-2(S)-pyrrolicarboxylic acid, methyl ester and (S)-N-[2-(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-1-oxo-3-phenylpropyl-1,2,3-trihydro-2(R)-pyrrolicarboxylic acid, methyl ester

Dissolve the diastereomeric mixture of (S)-N-[2-(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-phenylalanyl]-2-(3-oxopropyl)glycine, methyl esters (4.5g) in 1,1,1-trichloroethane (150mL) and treat with trifluoroacetic acid (0.5mL). Heat at reflux for 18 hours, evaporate the solvent and purify by silica gel chromatography (80% ethyl acetate/hexane) to give the 2(S)-title compound (700mg) and the 2(R)-title compound (600mg).

Scheme A, Step e: [6 α (R*), 11b β]-6-[(S)-(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-1,2,3,5,6,7,11b-heptahydro-5-oxopyrrolo[2,1-a][2]benzazepine-3(S)-carboxylic acid, methyl ester

Dissolve (S)-N-[2-(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-1-oxo-3-phenylpropyl-1,2,3-trihydro-2(S)-pyrrolicarboxylic acid, methyl ester (338mg, 0.836mmol) in anhydrous methylene chloride (10mL) and add to trifluoromethanesulfonic acid (5mL). Stir for 3.5 hours, cool in an ice bath and carefully add water (25mL). Extract with ethyl acetate (75mL) and wash with saturated sodium hydrogen carbonate (25mL). Dry (Na₂SO₄) and evaporate the solvent in vacuo. Purify by silica gel chromatography (1:1 ethyl acetate/hexane to 2:1 ethyl acetate/hexane) to give the title compound as a white foam (314mg, 93%).

Scheme A, Step f: [6 α (R*), 11b β]-6-[(S)-Amino]-1,2,3,5,6,7,11b-heptahydro-5-oxo-pyrrolo[2,1-a][2]benzazepine-3(S)-carboxylic acid, methyl ester

Dissolve [6 α (R*), 11b β]-6-[(S)-(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-yl)]-1,2,3,5,6,7,11b-heptahydro-5-oxopyrrolo[2,1-a][2]benzazepine-3(S)-carboxylic acid, methyl ester (244mg, 0.603mmol) in methanol (3mL), treat with hydrazine monohydrate (0.70mL of a 1M solution in methanol) and stir at room temperature for

2/4
214

Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design

Lídia Moreira Lima and Eliezer J. Barreiro*

Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. CCS, Cidade Universitária, CP 68.006, 21944-190, Rio de Janeiro, R.J., Brazil

Abstract: This review aim to demonstrate the role of bioisosterism in rational drug design as well as in the molecular modification and optimization process aiming to improve pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of lead compounds.

1. INTRODUCTION

Bioisosterism is a strategy of Medicinal Chemistry for the rational design of new drugs, applied with a lead compound (LC) as a special process of molecular modification [1]. The LC should be of a completely well known chemical structure and possess an equally well known mechanism of action, if possible at the level of topographic interaction with the receptor, including knowledge of all of its pharmacophoric group. Furthermore, the pathways of metabolic inactivation [2], as well as the main determining structural factors of the physicochemical properties which regulate the bioavailability, and its side effects, whether directly or not, should be known so as to allow for a broad prediction of the definition of the bioisosteric relation to be used.

The success of this strategy in developing new substances which are therapeutically attractive has observed a significant growth in distinct therapeutic classes, being amply used by the pharmaceutical industry to discover new analogs of therapeutic innovations commercially attractive (*me-too*), and also as a tool useful in the molecular modification.

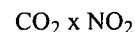
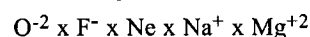
There may be innumerable reasons for the use of bioisosterism to design new drugs, including the necessity to improve pharmacological activity, gain selectivity for a determined receptor or enzymatic isoform subtype - with simultaneous reduction of certain adverse effects -, or even optimize the pharmacokinetics the LC might present.

In this paper, we will discuss bioisosterism as a strategy of molecular modification, showing its importance in building a new series of congeners compounds designed as candidate of new drugs, giving examples of successful cases in distinct therapeutic classes [3-7].

2. BACKGROUND

In 1919, Langmuir [8] studying the chemical behavior and reactivity of determined substances possessing atoms or groups with the same number of valence electrons, *i.e.*

isoelectronic, created the concept of isosterism to define atoms or organic or inorganic molecules which possess the same number and/or arrangement of electrons examples:



In 1925, Grimm [9] formulated the *Hydride Displacement Law*, an empiric rule which states that the addition of a hydrogen atom with a pair of electrons (*i.e.* hydride) to an atom, produces a pseudoatom presenting the same physical properties as those present in the column immediately behind on the Periodic Table of the Elements for the initial atom (Fig. 1), showing that any atom belonging to groups 4A, 5A, 6A, 7A on the Periodic Table change their properties by adding a hydride, becoming isoelectronic pseudoatoms.

In 1932, Erlenmeyer [10] proposed a broadening of the term isosterism, defining isosteres as elements, molecules or ions which present the same number of electrons at the valence level. His contribution includes the proposition that elements of the same column on the Periodic Table are isosteres among themselves (*e.g.* C x Si x Ge) and the creation of a concept of rings electronically equivalent, later broadened to the term ring bioisosterism.

The coining of the term bioisosterism goes back to the pioneer work of Friedman and Thornber during the early 50s. Friedman [11], recognizing the usefulness of the concept *isosterism* to design bioactive molecules, defined bioisosters as compounds which fit the definitions of isosteres and which exercise their biological activity of bioreceptor, whether through agonist or antagonist actions. However, Friedman introduced the term bioisosterism to describe the phenomenon observed between substances structurally related which presented similar or antagonistic biological properties [11]. Later, Thornber [3] proposed a broadening of the term bioisosteres, defining them as sub-units or groups or molecules which possess physicochemical properties of similar biological effects.

Over the years, innumerable bioisosteric relations have been identified in compounds both natural and synthetic. In nature, we have identified many examples of isosterism as a

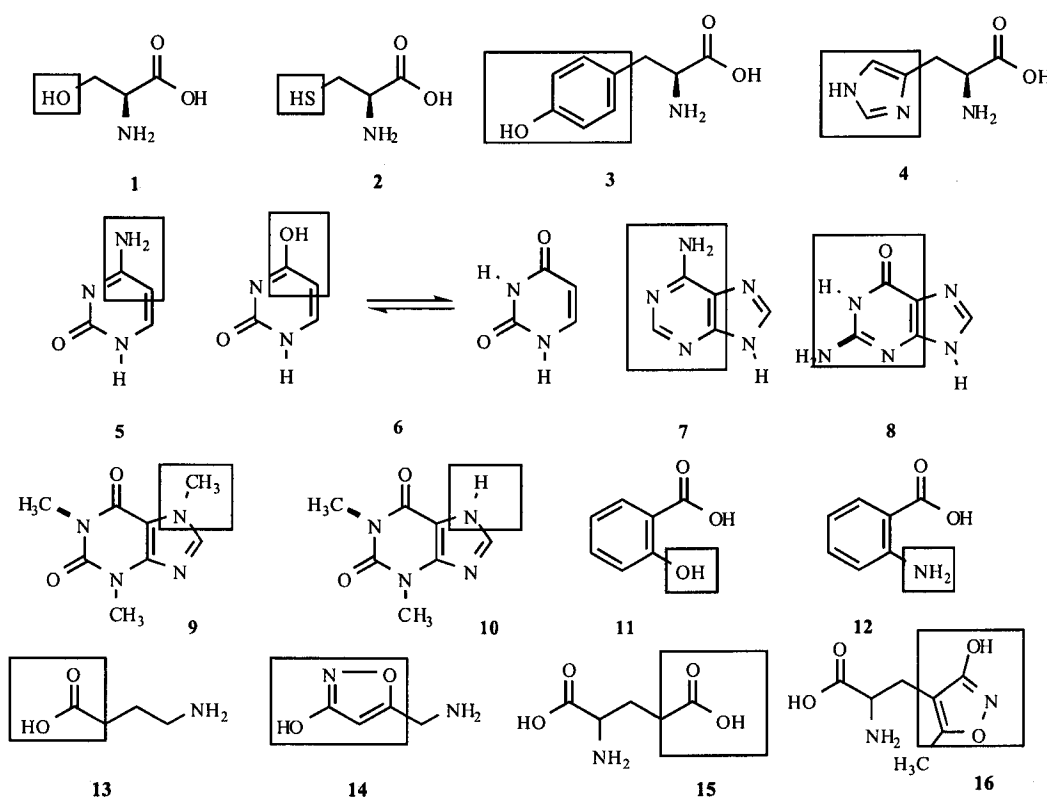
*Address correspondence to this author at the Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. CCS, Cidade Universitária, CP 68.006, 21944-190, Rio de Janeiro, R.J., Brazil. E-mail: ejb@pharma.ufrj.br

	Group 4A	Group 5A	Group 6A	Group 7A	Group 8A	
N° of e ⁻	6	7	8	9	10	11
	C	N	O	F	Ne	Na ⁺
	H·L	CH	NH	OH	FH	
		H·L	CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺
			H·L	CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺
				H·L	CH ₄	NH ₄ ⁺

Fig. (1). Grimm's hydride displacement law.

form of broadening chemodiversity (Scheme 1), striking among which are the classic bioisosteric relation existing between the essential amino acids serine (1) and cysteine (2), tyrosine (3) and histidine (4) among the pyrimidine and purine bases cytosine (5) and uracile (6), adenine (7) and guanine (8); among the xanthines caffeine (9) and theophylline (10); and among the salicylic (11) and anthranilic (12) acids, which originated two important

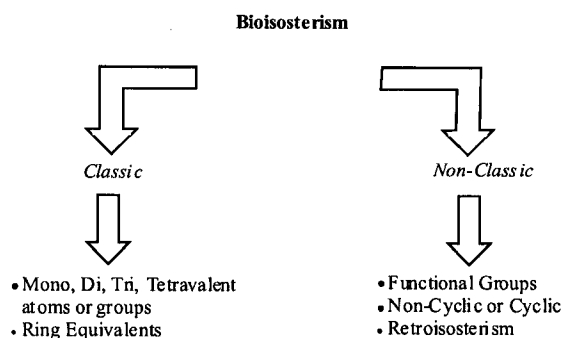
classes of non-steroid anti-inflammatory drugs, *e.g.* acetylsalicylic acid and mefenamic acids, respectively. Furthermore, examples of the application of non-classic bioisosterism are also found in nature - such as the bioisosteric relationship existing between γ -aminobutyric acid (GABA) (13) and muscimol (14), between the neurotransmitters glutamate (15) and AMPA (16).



Scheme 1.

3. CLASSIFICATION OF BIOISOSTERISM: CLASSIC AND NON-CLASSIC

In 1970, Alfred Burger classified and subdivided bioisosteres into two broad categories: Classic and Non-Classic [12] (Scheme 2).



Scheme 2.

Burger's definition significantly broadened this concept, now denominating those atoms or molecular subunits or functional groups of the same valence and rings equivalents as classic bioisosteres. (Table 1), while non-classic bioisosteres were those which practically did not fit the definitions of the first class (Table 2).

- 1 Classic Bioisosteres (Table 1)
 - 1.1 Monovalent atoms or groups
 - 1.2 Divalent atoms or groups
 - 1.3 Trivalent atoms or groups
 - 1.4 Tetrasubstituted atoms
 - 1.5 Ring equivalents
- 2 Non-Classic Bioisosteres (Table 2)
 - 2.1 Cyclic vs Noncyclic
 - 2.2 Functional groups
 - 2.3 Retroisosterism

Table 1 Classic Bioisostere Groups and Atoms

Monovalent	Divalent	Trivalent	Tetravalent
, -OH, -NH ₂ , -CH ₃ , -OR	-CH ₂ -	=CH-	=C=
-F -Cl, -Br, -I, -SH, -PH ₂ ,	-O-	=N-	=Si=
-Si ₃ , -SR	-S-	=P-	=N ⁺ =
	-Se-	=As-	=P ⁺ =
	-Te-	=Sb-	=As ⁺ =
			=Sb ⁺ =

Many authors have contributed to updating the tables of functional bioisostere groups, which explains why, in that which we refer to as non-classic bioisosterism, we have observed a growing number of bioisosteres described in the literature [6-7].

4. BIOISOSTERISM AS A STRATEGY OF MOLECULAR MODIFICATION

Among the most recent numerous examples used in the strategy of bioisosterism for designing new pharmacotherapeutically attractive substances [6-7,13], there is a significant predominance on non-classic bioisosterism, distributed in distinct therapeutic categories, be they selective receptor antagonist or agonist drugs, enzymatic inhibitors or anti-metabolites. The use of classic bioisosterism for the structural design of new drugs, while less numerous, has also been carried out successfully [6].

The correct use of bioisosterism demands physical, chemical, electronic and conformational parameters involved in the planned bioisosteric substitution, carefully analyzed so as to predict, although theoretically, any eventual alterations in terms of the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties which the new bioisosteric substance presents.

Thus being, any bioisosteric replacement should be rigorously preceded by careful analysis of the following parameters [5]:

- a) size, volume and electronic distribution of the atoms or the considerations on the degree of hybridization, polarizability, bonding angles and inductive and mesomeric effects when fitting;
- b) degree of lipidic and aqueous solubility, so as to allow prediction of alteration of the physicochemical properties such as logP and pKa;
- c) chemical reactivity of the functional groups or bioisosteric structural subunits, mainly to predict significant alterations in the processes of biotransformation, including for the eventual alteration of the toxicity profile relative to the main metabolites;
- d) conformational factors, including the differential capacity formation of inter- or intramolecular hydrogen bonds.

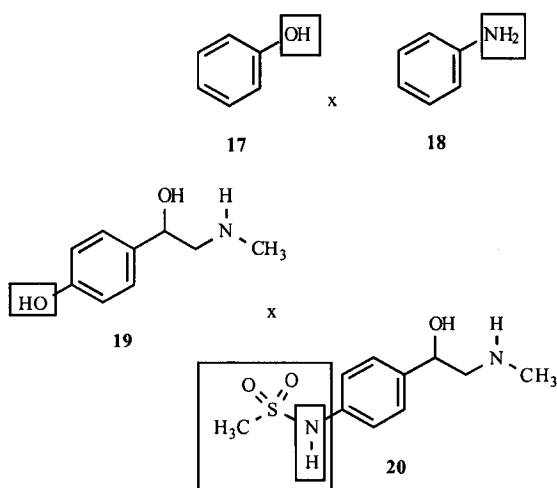
4.1. BIOISOSTERISM AND ALTERATIONS OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

Some bioisosteric groups dramatically alter the physicochemical properties of substances and, therefore, their activities. This can be easily understood by comparing classic isosteres resulting from bioisosteric replacement between hydroxyl (-OH) and amine (-NH₂), an example of classic bioisosterism of monovalent groups according to Grimm's Rule. In this case, considering the bioisosteric replacement of aromatic amine present in aniline (18) by hydroxyl, we have phenol (17) (Scheme 3) resulting in a significant change in the acid-base properties of isosteres, with dramatic modification of the pKa of the compounds, which is responsible for the distinct pharmacokinetic profiles among the isosteres in question. Furthermore, in terms of molecular recognition of a given receptor site, we have a change from one positively charged function (-NH₃⁺), originating from basic aromatic amine function (pK_b = 9,30) by another acid (pK_a = 10,0) present in phenol, which may, quite probably, abolish the original activity [14]. Thus, in

Table 2 Non-Classic Bioisosteres

-CO-	-COOH	-SO ₂ NH ₂	-H	-CONH-	-COOR	-CONH ₂
-CO ₂ -	-SO ₃ H	-PO(OH)NH ₂	-F	-NHCO-	-ROCO-	-CSNH ₂
-SO ₂ -	-tetrazole					
-SO ₂ NR-	-SO ₂ NHR -SO ₂ NH ₂		-OH -CH ₂ OH		-catechol	
-CON-	-3-hydroxyisoxazole				-benzimidazole	
-CH(CN)-	-2-hydroxychromones		-NHCONH ₂			C ₄ H ₄ S
R-S-R			-NH-CS-NH ₂			-C ₅ H ₄ N
(R-O-R')	=N-					-C ₆ H ₅
R-N(CN)-	C(CN)=R'		-NH-C(=CHNO ₂)-NH ₂ -NH-C(=CHCN)-NH ₂			-C ₄ H ₄ NH
-halides						
	-CF ₃					
	-CN					
	-N(CN) ₂					
	-C(CN) ₃					

this example, we may predict that the use of bioisosterism, even the classic type, can promote severe alterations of molecular properties, as much in terms of lipidic-aqueous solubility as well as chemical reactivity, among others, which, broadly speaking, is not observed in the same homologue carbonic series. Otherwise, the system's enzymatic capacity for hepatic detoxification of xenobiotics, involving the microsomal mixed function oxidase also called cytochrome P-450 system [14], is distinct in the presence of these functional isosteric groups, which does not allow a simplistic comparison between the lead compound aniline (18) and the hydroxylated isostere (17) in terms of metabolism, altering, therefore, the pharmacokinetic phase as well as the pharmacodynamics of the isosteres.



Scheme 3.

Another classic example of isosteric replacement involving phenol (PhOH), can be found in the search for adrenergic derivatives, structurally related to catecholamines

(Scheme 3) [15]. This example illustrates the exchange of phenolic hydroxyl group present in compound 19 with the arilsulfonamide unit in compound 20, through the use of non-classic bioisosterism of functional groups.

The results obtained, carrying out bioassays with these compounds, witness comparable biological activities through the mechanism of equivalent action, allowing us to conclude that both functional groups involved are authentic bioisosteres. This bioisosteric relationship was experimentally evidenced by determining the degree of acidity of these substances. Both compounds are of comparable acidity ($pK_A = 9.1$ and 9.6 respectively), explaining the similarity of biological profile in function of equivalent interactions of both molecules with site receptor, possibly through ionic bonding, in the presence of a similar acidity or even through hydrogen bonding [15]. Furthermore, both acidic groups, *i.e.* R-PhOH and R-PhNHSO₂CH₃ are, in this case, monovalent groups. However, the identified bioisosteric relationship between the PhOH and PhNHSO₂CH₃ groups, confirmed for adrenergic derivatives 19 and 20, is not extensive to other bioreceptors in which the process of molecular recognition is distinct. An example of how isostere groups can, in certain systems, not maintain a bioisosteric relationship, previously defined in another bioreceptor, is well illustrated with the analyses of 21 and 22, described by McCurdy and coworkers (Scheme 4) [16]. The structural design of 3-sulfonamido compound 22, targeting the attainment of new bonds for opioid receptors, was based on the structural data of lead compound 21, which point to the relevance of phenolic hydroxyl as site of molecular recognition. This way, the replacement OH by the NHSO₂CH₃ group would respect the acidic properties and the characteristics donor and/or acceptor H-bonds as evidenced by the previous work of Larsen and Lish (1964). Nonetheless, the determination of the pharmacological properties of arilsulfonamide derivative 22, evidenced the absence of affinity by the opioid receptors, *in vitro* models,

el examinador para afirmar que no existe sustento descriptivo. Por lo tanto, el contenido de la descripción es totalmente claro.

Es así como en el aparte denominado métodos biológicos y resultados se dice que los nuevos compuestos de fórmula I tienen acción hipotensora intensiva, de larga duración. Adicionalmente, en pacientes con insuficiencia cardíaca, los compuestos de fórmula I incrementan el gasto cardíaco, reducen la presión diastólica terminal ventricular izquierda e incrementan el flujo coronario. La actividad excepcionalmente potente de los compuestos según la fórmula I se demuestra mediante los datos farmacológicos resumidos en la Figura 1.

Los resultados de la Figura 1 muestran que hay una reducción significativamente mejorada de la presión sanguínea arterial media a cada una de las dosis administradas en comparación con la misma dosis oral de MDL 100 240 (compuesto revelado en D1).

En lo anteriormente enunciado se exponen las ventajas (actividad farmacológica mejorada de un compuesto de la presente solicitud) con respecto a un compuesto conocido en el estado de la técnica de tal manera que se está cumpliendo con uno de los requisitos de la descripción según la cual debe exponer las ventajas con respecto a la tecnología anterior.

Igualmente, en el aparte de la descripción de la técnica se menciona que los compuestos de la presente invención han mejorado sorprendentemente las propiedades de ADME sobre los compuestos ejemplificados en el estado de la técnica de tal manera que si se señalan las ventajas con respecto a la tecnología anterior y si hay divulgación suficiente de la invención.

En el aparte síntesis química y parte experimental se encuentra descrita al forma como se pueden obtener los compuestos descritos en la invención de tal manera que una persona versada en la materia puede llegar a ejecutar la invención teniendo como base la información suministrada en la invención.

En conclusión, la presente solicitud si tiene sustento descriptivo, toda vez que la misma cuenta con la suficiente información clara y suficiente para que una persona versada en la materia pueda ejecutarla según el artículo 28 de la Decisión 486. Prueba de ellos es que el examinador llevó a cabo el estudio de novedad y nivel Inventivo a partir de la información encontrada en la descripción.

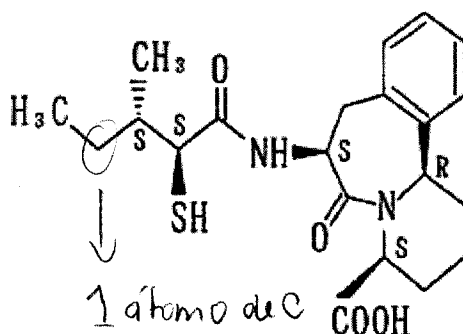
Novedad

"Argumenta el examinador que el compuesto de fórmula (IC) MDL10848 homologa las características esenciales del ejemplo 148 revelado en D2. No se explica su Despacho como el

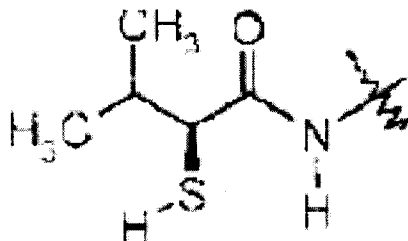
197197

solicitante aporta resultados diferentes respecto de parámetros como la concentración inhibitoria IC50 de ECA y de EPN si se trata de la misma estructura química y molecular".

El ejemplo 148 de D2 presenta la siguiente estructura:



Es obvio que en la parte izquierda de la molécula de D2 el grupo $-\text{CH}(\text{SH})-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (grupo metilo adicional) es diferente de la fórmula I de la presente reivindicación 1 que contiene un grupo $\text{CH}(\text{SR}_1)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, como se evidencia a continuación:

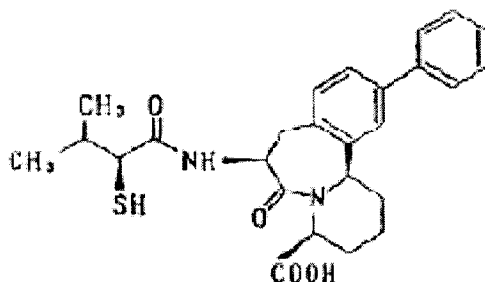


En consecuencia, los compuestos de fórmula (I) de la presente invención son novedosos en vista del compuesto revelado en D2 y así mismo los resultados de IC 50 y EPN son contundentes para demostrar la superioridad de los compuestos acá reivindicados ya que no se trata de la misma estructura química y molecular según el examinador.

Nivel Inventivo

D2 [EP 0671172]

En el documento D2 compuesto E-10 se revela el siguiente compuesto:



El anterior compuesto difiere del compuesto de formula I acá reivindicado en que presenta un sustituyente fenilo adicional. Dicho grupo no es una diferencia mínima tal como afirma el examinador. No existe información para una persona versada en la materia de eliminar el grupo fenilo con el fin de llegar a la estructura de los compuestos del presente capítulo reivindicatorio.

Según el Manual Andino de Patentes, se considera que un compuesto nuevo tiene nivel inventivo cuando el *compuesto presenta un efecto sorprendente especialmente cuando las estructuras son muy próximas a las del estado de la técnica*¹. En el caso del compuesto 148 descrito en D2 debe tenerse en cuenta dicha afirmación toda vez que el compuesto acá reivindicado muestra superioridad sobre dicho compuesto en cuanto a la inhibición e ECAh y NEP de acuerdo a la Tabla 1.

En otras palabras, un compuesto X que se reivindique y que sea muy similar a alguno del estado de la técnica tiene nivel inventivo si se logra demostrar entre otras cosas (como que una persona versada en la materia no habría llegado a X sustitución sobre un compuesto) que tiene un efecto sorprendente o mejorado que es lo que sucede cuando se compara el compuesto acá reivindicado cuando se compara con D1 o D2. Es así como pequeñas o mínimas sustituciones sobre una molécula son las responsables de dicho efecto mejorado.

D1 [USP 5430145]

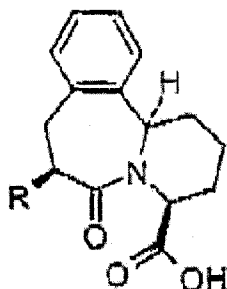
"Argumenta el examinador que si bien se hace referencia a los activos MDL 100240 revelado en D1 y MDL 107688 sobre estos compuestos no se señalan resultados de actividad comparada con respecto a los compuestos que se reclaman como nuevos".

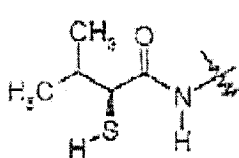
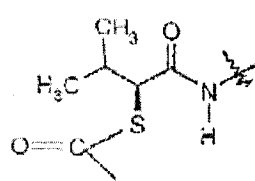
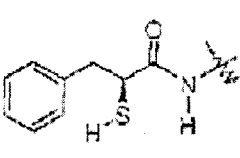
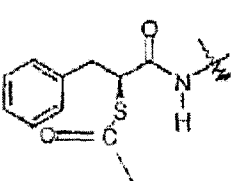
El compuesto MDL 107688 **NO** es un compuesto del estado de la técnica sino un compuesto de la presente invención el cual muestra superioridad elevada sobre el compuesto MDL 100240.

Ahora bien, con el fin de ilustrar al señor examinador y hacer claridad en los diferentes compuestos comparados presento la siguiente tabla:

¹ Manual Andino de Patentes. Que es necesario considerar para que un compuesto nuevo tenga nivel inventivo? Pág 83.

199
144



MDL 108048 [Fórmula IC en la presente solicitud] R es	MDL 107688 [Fórmula IB en la presente solicitud] R es	MDL 100173 [USP 5430 145, Col 74, Tabla 1 R es	MDL 100240 USP 5430145 R es
			

▪ **Comparación entre MDL 107688 (presente solicitud) y MDL 100240 (Documento D1)**

Tal como se advirtió en la anterior respuesta, los compuestos más cercanos en relación a USP 5430 145 (D1) son el compuesto MDL 100240 (donde R2 es -CH2-fenil, R3 es acetil en la reivindicación 1 de D1) o el compuesto MDL 100173 (donde R3 es H en la reivindicación 1 de D1).

Ninguna de las enseñanzas de D1 llevaría a una persona versada en la materia a sustituir el grupo fenil-metilo por un grupo iso-propil tal como se muestra en la fórmula (I) de la reivindicación 1 acá reivindicada.

Es más, la superioridad del compuesto acá reivindicado se muestra en la **Figura 1** de la presente solicitud donde el compuesto MDL 107688 de la presente solicitud muestra claramente una elevada reducción de la presión arterial sobre el compuesto MDL 100240 (D1).

▪ **Comparación entre MDL 108048 y MDL 100173**

En la anterior respuesta se presentaron los resultados de los experimentos comparativos donde se hizo la comparación del correspondiente **tiol libre** en lugar del derivado S-acetilo. Los compuestos comparados son:

MDL 108048: Fórmula IC de la presente solicitud (R1 es H y R2 es H en la nueva reivindicación 1);

MDL 100173: donde R1 es H en lugar de acetilo en MDL 100240 (descrito en USP 5 430 145).

Los compuestos **MDL 108048** y **MDL 100173** son tioles libres y por lo tanto son comparables el uno al otro. Estos compuestos se evaluaron con respecto a la inhibición *in vitro* de la enzima convertidora de angiotensina humana y endopeptidasa neutral:

- Inhibición *In-Vitro* de enzima convertidora de angiotensina (ECA) y endopeptidasa neutral (NEP).

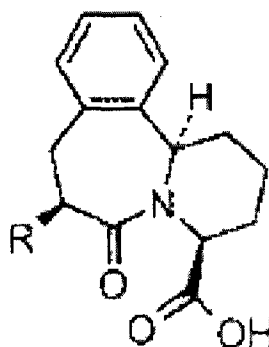


Tabla 1

Compuesto	R es	Inhibición de ECAh IC 50 (nM)	Inhibición de NEP IC50 (nM)
MDL 108048 (Formula IC) Compuesto de la Presente solicitud	Chemical structure of the R group for MDL 108048: a 2-methyl-3-((S)-methylthio)butanoyl group. It consists of a butyrate chain with a methyl group at the 2-position and a methylthio group at the 3-position, with the sulfur atom having a wedge bond indicating (S) stereochemistry.	<u>0.052</u>	<u>5.0</u>
MDL 100173 (USP 5430145) Col. 74, Tabla 1)	Chemical structure of the R group for MDL 100173: a (S)-1-phenylethyl group. It consists of a phenyl ring attached to a chiral carbon atom, which is also bonded to a hydrogen atom (with a wedge bond) and a methylthio group (with a dash bond).	0.039	1.0
BS39-002a (ejemplo 148 de EP 0671172)	Chemical structure of the R group for BS39-002a: a (S)-2-methyl-3-((S)-methylthio)butanoyl group. It is similar to MDL 108048, but the methyl group at the 2-position is shown with a wedge bond, indicating (S) stereochemistry.	0.029	0.59

Adicionalmente, el tipo de inhibición de los compuestos evaluados se determinó de acuerdo a los respectivos valores V_m y K_m .

ECA

Tabla 2

Compuesto	Concentración	Vm (A.U.)	Km (A.U.)	Tipo de inhibición
BS39-002a D ₂	0 3x10 ⁻¹² M 3x10 ⁻¹¹ M 3x10 ⁻¹⁰ M	1.00E+05 -1.50E+02 -3.33E+04 -1.43E+03	2.00E+04 -2.90E-06 -3.33E-05 -1.00E-05	Vm y Km varían en presencia del incremento de la concentración del compuesto inhibitorio: competencia no competitiva o mezclada
MDL108048 *	0 3x10 ⁻¹² M 3x10 ⁻¹¹ M 3x10 ⁻¹⁰ M	1.00E-05 -2.00E-04 1.25E+05 -5.00+02	2.00E-04 -1.00E-05 1.25E+04 -1.00E-06	Vm y Km varían en presencia de del incremento de la concentración del compuesto inhibitorio: competencia no mezclada o competitiva
MD100173 D ₁	0 3x10 ⁻¹² M 3x10 ⁻¹¹ M 1x10 ⁻⁹ M	1.00E+05 1.67E+04 3.33E+04 1.72E+02	2.00E+04 1.67E-05 3.33E-05 1.72E-06	Vm y Km varían en presencia del incremento de la concentración del compuesto evaluado: competencia no competitiva o mezclada

NEP

Tabla 3

Compuesto	Concentración	Vm (A.U.)	Km (A.U.)	Tipo de inhibición
BS39-002a D ₂	0 1x10 ⁻¹⁰ M 5x10 ⁻¹¹ M 1x10 ⁻⁹ M	161.29 158.73 126.58 19.68	1.13E-05 9.52E-06 2.53E-05 1.97E-07	Vm y Km varían en presencia del incremento de la concentración del compuesto inhibitorio: competencia no competitiva o mezclada
MDL108048	0 3x10 ⁻¹⁰ M 3x10 ⁻⁹ M 3x10 ⁻⁸ M	161.29 135.13 102.04 12.95	1.13E-05 1.08E-05 1.02E-05 7.77E-05	Vm y Km varían en presencia de del incremento de la concentración del compuesto inhibitorio: competencia no competitiva
MD100173 D ₁	0 1x10 ⁻¹⁰ M 3x10 ⁻¹⁰ M 3x10 ⁻⁹ M	161.29 256.41 238.10 208.33	1.13E-05 5.13E-05 7.14E-05 1.46E-04	Vm y Km varían en presencia del incremento de la concentración del compuesto evaluado: competencia no competitiva o mezclada

Definiciones

Inhibición Competitiva: El agonista (sustrato) (bradiquinina en el ensayo de inhibición de péptido atrial natriuretico en el ensayo de inhibición de NEP) y antagonista (compuesto inhibidor) compiten por la enzima (hACE o NEP) se unen al sitio y no hay formación de complejo enzima-agonista-antagonista (enzima-sustrato-inhibidor). El valor Vm es constante y solo Km cambia cuando la concentración de antagonista se eleva.

Inhibición incompetitiva: elevadas concentraciones del agonista (sustrato)(bradiquinina en el ensayo de inhibición de hACE y NEP) son capaces de desplazar el compuesto antagonista de la enzima perdiéndose el efecto inhibitorio del antagonista. A medida que la concentración del antagonista se eleva Km y Vm cambian de manera proporcional

202 202

Inhibición No-competitiva: elevadas concentraciones de agonista (sustrato) (bradiquinina en el ensayo de inhibición de hACE o NEP) no son capaces de desplazar el compuesto antagonista del sitio de unión de la enzima. Esto significa que no hay influencia en el complejo de unión inhibidor/enzima. **Independientemente de la concentración del agonista aún existe una acción completa del antagonista sobre la enzima.** A medida que la concentración del antagonista se eleva, Km es constante y Vm cambia. La unión de la enzima y el agonista (sustrato) no tiene influencia sobre la unión del antagonista (inhibidor) y la enzima.

Según el Manual Andino de Patentes, ante una objeción por nivel inventivo, el solicitante puede aportar pruebas para apoyar ese nivel en forma de argumentos o documentos mediante **ensayos especialmente comparativos** para demostrar la presencia de un efecto técnico o ventaja de la invención, respecto del estado de la técnica más cercano².

En consecuencia, solicito respetuosamente al señor examinador tener en cuenta los nuevos datos y ejemplos comparativos presentados junto con el presente memorial que demuestran la superioridad de los compuestos acá reivindicados.

Con respecto a la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECAh), los compuestos **MDL 108048**, **MDL 100173** y **BS39002a** presentan potencia inhibitoria de ECAh), similar y cada compuesto presenta inhibición no competitiva o mezclada de actividad de ECAh), basado en el análisis de los datos de Vm y Km.

Igualmente, en cuanto a la actividad inhibitoria de NEP, los compuestos MDL 100173 y BS-39-002a presentan inhibición no competitiva o mezclada; sin embargo, el compuesto MDL 108048 (compuesto de la presente solicitud) presenta una inhibición cualitativamente diferente e inesperada. Es así como el compuesto MDL 108048 (compuesto de la presente solicitud) es un inhibidor débil de NEP si se compara con los compuestos MDL 100173 o BS39-002a. Así mismo, el análisis de los datos de Vm y Km sugieren que el compuesto MDL 108048 es un inhibidor no competitivo de NEP. Por lo tanto, debido a este **diferente mecanismo de acción**, el compuesto MDL 108048 de la presente solicitud es capaz de generar un **nivel bajo de inhibición de NEP de larga duración** ya que se une a un sitio diferente al del sustrato (agonista) y como tal, no puede ser desplazado por el sustrato (agonista).

Debido a que la endopeptidasa neutral presenta una elevada prevalencia en el hígado se puede deducir que la tendencia disminuida de excretar albúmina por parte del compuesto MDL 107688 se basa en ~~una inhibición competitiva de NEP lo cual~~ resulta en la capacidad de prevenir la neuropatía en pacientes diabéticos (ver Schafer et al, Cardiovascular Research 2003,60, 447-454). Es así como dicho **mecanismo de acción diferente** se refleja en la actividad superior de los compuestos de la presente solicitud haciendo los compuestos de la presente solicitud inventivos sobre el arte previo.

² Manual Andino de Patentes. Información complementaria y ejemplos comparativos. Pág. 82.

Sobre este punto, quiero poner de presente a su Despacho que según el Manual Andino de Patentes, uno de los indicios de la presencia de nivel inventivo es el carácter inesperado del resultado³. En este caso, el diferente mecanismo de acción ya descrito de los compuestos acá reivindicados, debe considerarse como evidencia del nivel inventivo del compuesto acá reivindicado.

En otra palabras, es evidente a partir de los resultados obtenidos que la inhibición en ambos casos (enzima convertidora de angiotensina humana (hACE) y endopeptidasa neutral (NEP)) es mayor si se compara con los compuestos de los documentos D1 y D2 lo cual hace evidente el nivel inventivo de los compuestos acá reivindicados.

Ahora bien, si tenemos en cuenta que la inhibición de la endopeptidasa neutral resulta en un elevadas concentraciones de péptido natriuretico lo cual a su vez conlleva a efectos como diuresis, disminución de volumen intravascular, retorno venoso entre otros, es claro entonces que los compuestos de la presente solicitud muestran una elevada reducción de la presión arterial.

Igualmente sucede con la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina la cual evita la conversión de angiotensina I en angiotensina II (sustancia vasoconstrictora potente) resultando en disminución de angiotensina II circulante, aldosterona, disminución de la resistencia periférica lo cual conlleva evidentemente a una reducción en la presión arterial.

Según se puede observar a partir de los resultados obtenidos en la Tabla 1, se puede concluir que los compuestos acá reivindicados son superiores en cuanto a la inhibición de ECAh y NEP. *De acuerdo al Manual Andino de Patentes un efecto inesperado puede ser completamente diferentes de los descritos para compuestos similares conocidos, o bien ser igual pero con una mejora en los resultados*⁴. En la presente invención, el efecto es similar (inhibición de ECAh y NEP) pero con resultados superiores a los obtenidos con los compuestos conocidos (Tabla 1 y Figura 1).

Anexos

- Formulario de modificaciones
- Recibo de pago
- Nuevo capítulo reivindicatorio (9 reivindicaciones)
- Figura 1

³ Manual Andino de Patentes. Indicios de existencia de nivel inventivo. Pág 81.

⁴ Manual Andino de Patentes.10.8. Nivel Inventivo en áreas específicas de la tecnología. Pág.82.

**G. HOLLMANN RESTREPO
ABOGADOS LTDA.**

204
204

En conclusión, solicito a su Despacho conceder el privilegio de patente de invención a la presente solicitud toda vez que se ha demostrado que el compuesto acá reivindicado es novedoso e inventivo y que presenta resultados sorprendentes sobre los compuestos del estado de la técnica lo cual quedó totalmente demostrado mediante los argumentos presentados y los resultados de las Tablas 1, 2 y 3, la Figura 1 así como el nuevo capítulo reivindicatorio.

Solicito igualmente al señor Examinador tener en cuenta el aporte del compuesto acá reivindicado al estado de la técnica desde el punto de vista de su acción farmacológica mejorada sobre los compuestos ya conocidos.

De la Señora Jefe,



Luis Patiño Leyva

C.C. No. 2.930.616 de Bogotá

T.P.A. No. 2698 del C. Sup. de la Judicatura

Carrera 11A No. 94-76 Oficina 308 Santa Fe de Bogotá

Teléfonos: 6161948

13 FEB. 2008

205205



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

①

SOLICITUD DE:



Corrección de Error Material



Modificación a una solicitud

②

SOLICITANTE

Nombre: **SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH**

Dirección: Bruningstrasse 50
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: **LUIS PATIÑO LEYVA**

Dirección: Carrera 11A No. 94-76 Oficina 308

Teléfono: 616 19 48 Fax: 616 39 76

E-mail: gustavo_hollmann@etb.net.co

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

2.930.616 TPA 2698

④

Número de Expediente:

03.088.391

⑤

Descripción de la corrección o modificación solicitada:

Presento nuevo pliego reivindicatorio con 9 reivindicaciones sobre el cual solicito se efectúe el examen de patentabilidad de la solicitud.

⑥

Comprobante de pago No.

08-10,795

Fecha

8 de febrero de 2008

⑦

Anexos:



Comprobante de pago de la tasa.



Poderes si fuere el caso, junto con la sustitución de los mismos a mi favor.



Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas



Nuevo capítulo reivindicatorio

⑧

NOMBRE

LUIS PATIÑO LEIVA

FIRMA

CC 2.930.616 de Bogotá - TPA 2698 CSJ

20-
55126
206

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 10,795
CHA : FEBRERO 8 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



Nº. 03-088391-00011-0000

Acto 1103-12-13 15:07:04 Feb 2008 NUECREACIONE
PATENTENALII
Act 444 No. SPUESTA RECUE Folios 17

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
MANUEL MIRANDA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	4636887	08/02/2008	103,000.00

***** CONCEPTO *****

CONT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO	
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	103,000.00
TOTAL :				\$ 103,000.00

SON: CIENTO TRES MIL PESOS

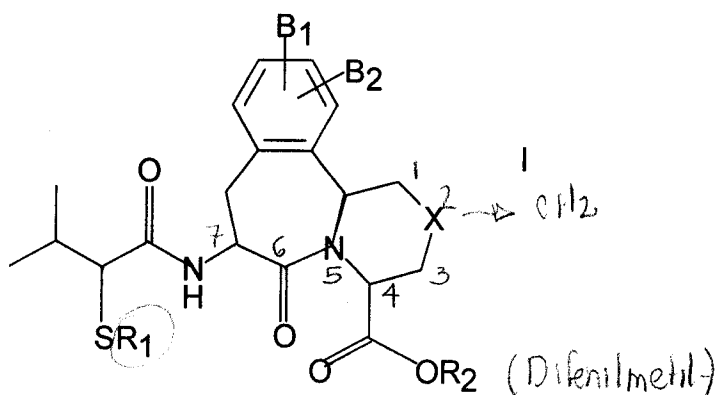
RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

REIVINDICACIONES

207 207x

1. Un compuesto de la fórmula I:



En donde

R₁ es hidrógeno o acetilo;

R₂ es hidrógeno o difenilmetilo:

X es -(CH₂)_n en donde n es 1;

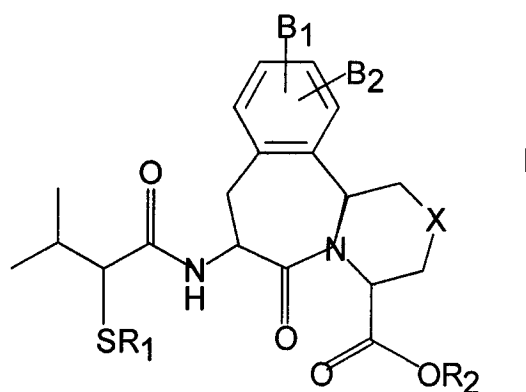
B₁ y B₂ son hidrógeno:

O sus sales aceptables farmacéuticamente o estereo-isómeros de éste.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el compuesto es el éster difenilmetílico del ácido [4S-[4 α ,7 α (S), 12 b β]]-7-[[2(S)-acetiltio-3-metil-1-oxobutil]amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b – octahidro -6- oxo-pirido[2,1a][2]benzazepina-4-carboxílico
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el compuesto es el éster difenilmetílico del ácido [4S-[4 α ,7 α (S), 12 b β]]-7-[[3-metil-1-oxo-2(S)-tiobutil]amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b – octahidro -6- oxo-pirido[2,1a][2]benzazepina-4-carboxílico
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R₂ es hidrógeno.
5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 en donde el compuesto es el ácido [4S-[4 α ,7 α (S), 12 b β]]-7-[[2(S)-acetiltio-3-metil-1-oxobutil]amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b – octahidro -6- oxo-pirido[2,1a][2]benzazepina-4-carboxílico.

208 209

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 en donde el compuesto es el ácido [4S-[4 α ,7 α (S), 12 b β]]-7-[[3-metil-1-oxo2(S)-tiobutil]amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b – octahidro -6- oxo- pirido[2,1a][2]benzazepina-4-carboxílico.
7. Un proceso para la preparación de un compuesto de la formula I



En donde

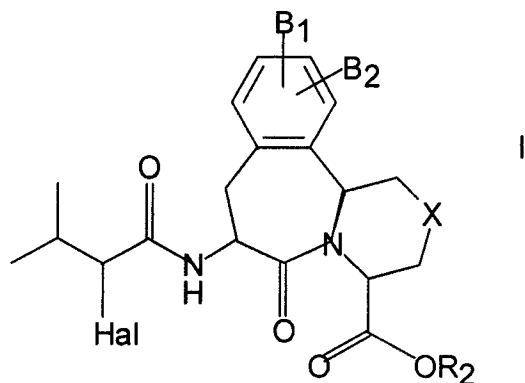
R₁ es hidrógeno o acetilo;

R₂ es hidrógeno o difenilmetilo:

X es -(CH₂)_n en donde n es 1;

B₁ y B₂ son hidrógeno:

Que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de formula II



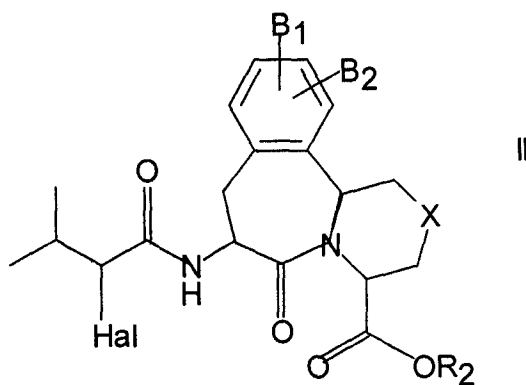
En donde

Hal es halógeno,

209209

Con un compuesto de fórmula R_1SH , en donde R_1 es como se definió previamente, en presencia de una base seleccionada de un carbonato de un metal alcalino.

8. Un proceso para la preparación de un compuesto de la formula II:



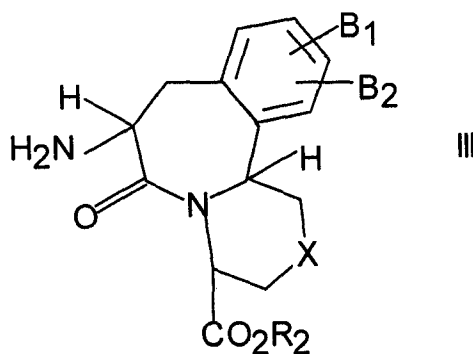
En donde

R_2 es hidrógeno o difenilmetilo:

X es $-(CH_2)_n$ en donde n es un entero 1;

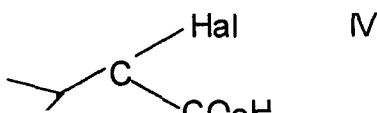
B_1 y B_2 son hidrógeno:

Que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de formula III



En donde R_2 , X, B_1 y B_2 son como se definió previamente.

Con un compuesto de la formula IV



210
~~210~~

En donde Hal es halógeno,

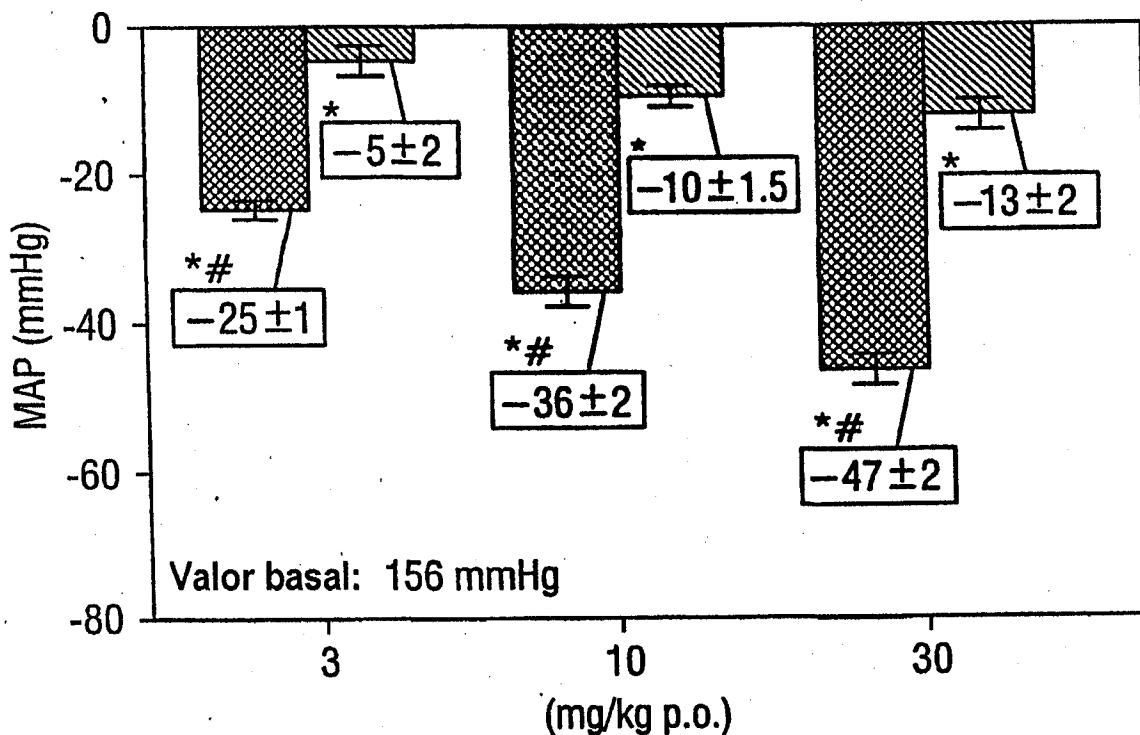
En presencia de un reactivo de acoplamiento y un solvente aprótico adecuado.

9. Una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos como los declarados en la reivindicación 1 y un vehículo aceptable farmacéuticamente.

21/21

Fig. 1

Reducción de presión sanguínea dependiente de dosis en
SHR tras MDL 107.688 y MDL 100.240 oral - Medición Telemétrica



n=6 / Grupo

*p<0,05 vs Valor basal

#p<0,05 vs MDL 100 240

 MDL 107.688 es ácido [4S-[4α, 7α(S), 12bβ]]-7-[(2(S)-acetiltio-3-metil-1-oxobutil)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahidro-6-oxo-pirido[2,1a][2] benzazepina-4-carboxílico.

 MDL 100.240 es ácido [4S-[4α, 7α(S), 12bβ]]-7-[(1-oxo-2(S)-acetiltio-3-fenilpropil)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahidro-6-oxo-pirido[2,1a][2] benzazepina-4-carboxílico.

Certificación

Esther González García
a/c Elzaburu S. A.
Miguel Ángel, 21. 28010 Madrid
Tel.: 91 700 9400 Fax: 91 319 3810
Intérprete Jurado del idioma inglés

Doña Esther González García
Intérprete Jurada de Inglés
certifica que la que antecede es traducción fiel y completa al español
de un documento redactado en inglés
En Madrid a 16/05/03

FIRMA

17

Dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(R)-acetyloxy-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester (366mg, 0.58mmol) in methanol (5mL) and tetrahydrofuran (5mL) and add lithium hydroxide (0.8mL of a 1M solution, 0.8mmol). Stir the reaction mixture for 2 hours and remove the solvent in vacuo. Acidify and partition between methylene chloride and water. Separate the organic phase, dry (MgSO₄) and concentrate in vacuo to yield a white foam.

In another run, dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(R)-acetyloxy-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxo-pyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester (100mg, 0.16mmol) in methanol (5mL) and tetrahydrofuran (5mL) and add lithium hydroxide (0.2mL of a 1M solution, 0.2mmol). Stir the reaction mixture for 1 hour, dilute with water (50mL), make acidic and extract with diethyl ether (50mL). Separate the organic phase, wash the water (2 $\times$ 50mL), dry (MgSO₄) and concentrate in vacuo.

Combine the material from both runs and purify by silica gel chromatography (30%, then 50% tetrahydrofuran/hexane) to yield 355mg (82%) of the title compound as a white foam.

Step k: [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester

Mix DIAD (31mg, 0.15mmol), triphenylphosphine (39mg, 0.16mmol) and anhydrous tetrahydrofuran (2mL). Cool to 0° C. and stir for 30 minutes under an argon atmosphere. Add the [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(R)-hydroxy-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester (59mg, 0.1mmol) as a solid, then immediately add thiolacetic acid (11 μ L, 0.15mmol). Allow the reaction to warm to ambient temperature and stir overnight. Remove the solvent in vacuo and purify the residue by silica gel chromatography (40% ethyl acetate/hexane then 50% ethyl acetate/hexane) to yield 51mg of the title compound.

EXAMPLE 7

Preparation of [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxo-pyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid

Dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester (51mg, 0.079mmol) in anisole (4 drops) and trifluoroacetic acid (1mL) under argon atmosphere at ambient temperature. Allow to stand for 45 minutes, remove the trifluoroacetic acid in vacuo and purify by silica gel chromatography (50mL of 40% ethyl acetate/hexane then 50mL of 40% ethyl acetate/hexane with 5% acetic acid added) to yield 30mg (74%) of the title compound.

EXAMPLE 8

Preparation of [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-thio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid

18

Dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid (57mg, 0.12mmol) in deoxygenated methanol (3mL) plus 1N lithium hydroxide (0.25mL, 0.25mmol). Stir for 30 minutes under argon atmosphere at ambient temperature. Reduce in volume to 1.5mL in vacuo, then add, by dropwise addition, to a rapidly stirring solution of 2N hydrochloric acid (2mL). Collect the resulting precipitate, wash with water and dry in a vacuum desiccator for 1 hour. Dry at 35° C. overnight to yield 30mg (58%) of the title compound as a white electrostatic powder.

EXAMPLE 9

Preparation of [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxo-pyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, pivaloyloxymethyl ester

Dissolve [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid (2.08g, 4.33mmol) in methylene chloride (25mL) and dry over anhydrous MgSO₄. Filter and wash with methylene chloride (3 $\times$ 200mL). Evaporate in vacuo to a residue. Dissolve the residue in anhydrous dimethylformamide (25mL) and place under nitrogen atmosphere. Add cesium carbonate (1.65g, 5.0mmole) in one portion. Stir for 45 minutes at ambient temperature. Add chloromethyl pivalate (753mg, 5.0mmol). Stir the resulting mixture at ambient temperature for 18 hours. Quench the reaction with ethyl acetate (50mL) and water (50mL). Separate the organic phase and wash with water (7 $\times$ 50mL), $\frac{1}{2}$ saturated potassium hydrogen carbonate (50mL), water (50mL), and saturated sodium chloride (50mL). Dry (MgSO₄), filter and evaporate in vacuo to yield the title compound.

EXAMPLE 10

Preparation of [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-Oxo-2(S)-thio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, pivaloyloxymethyl ester

Stir [4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(S)-acetylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, pivaloyloxymethyl ester (2.38g, 4mmol) and saturated methanolic ammonia at ambient temperature until hydrolysis is complete. Evaporate the solvent in vacuo and purify by silica gel chromatography to give the title compound.

The following compounds can be prepared by procedures analogous to those described above in Examples 1-10:

[4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(R)-benzoylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, diphenylmethyl ester;

[4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(R)-benzoylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid;

[4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2-thio-ethyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxo-pyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid;

[4S-[4 α , 7 α (R*), 12b β]]-7-[(1-oxo-2(R)-benzoylthio-3-phenylpropyl)amino]-1,2,3,4,6,7,8,12b-octahydro-6-oxopyrido[2,1-a][2]benzazepine-4-carboxylic acid, benzyl ester;

D₁^{2,12}
2/12