



SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-087033-00000-0000

Fecha: 2011-07-12 16:35:51
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 160

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO: **“DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES
ANTICÁNCER”**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **C07D 401/12**

71. SOLICITANTE: **JANSSEN PHARMACEUTICA NV**

DOMICILIO: **BEERSE, BÉLGICA**

74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. **9 JUL 2011**

(FORMA P 10).



**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: **JANSSEN PHARMACEUTICA
NV**

Dirección: Turnhoutseweg 30, B-2340
Beerse, Bélgica.

Nacionalidad o Domicilio: Beerse, Bélgica.

Lugar de Constitución: Bélgica.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número _____

③

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

**INVENTOR(ES)
(72)**

Nombre: **SCHOENTJES Bruno; DESCAMPS, Sophie y AMBLARD, Nathalie,
Claude, Isabelle.**

Dirección: c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, 2340 Beerse y c/o
Janssen-Cilag, Campus de Maigremont, BP 615, F-27106 Val de Reuil Cedex.

Nacionalidad o Domicilio: Bélgica y Francia.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2010/051316

Fecha: 03/02/10

Publicación Internacional No. WO 2010/089327 A3

Fecha: 12/08/10

⑥

Título (54)

"DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES ANTICÁNCER"

⑦

Clasificación Internacional (51) C07D 401/12

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

04/02/09

(31) Número de Solicitud

09152089.0

⑨

Comprobante de Pago No. 11-0059654

Fecha: 20 de Junio de 2011

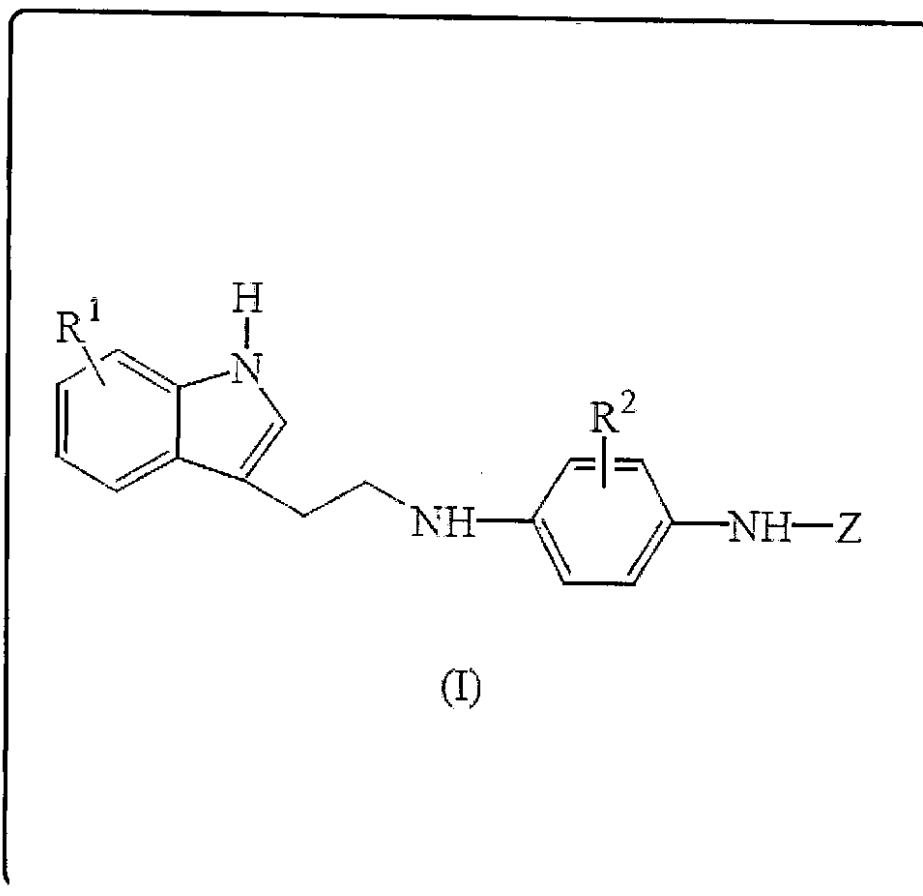
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☒ Declaraciones. (Declaración bajo las Reglas 4.17(ii) y 51bis.1(a)(ii) que acreditan el traspaso de los inventores al solicitante)
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones)
- ☐ Copia del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ 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.
- ☒ 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, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional, Publicación y Opinión Escrita.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

[Handwritten signature]

C.C. 39.690.713

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0059654

Bogotá D.C., Junio 20 de 2011 - 18:02:31

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA S.A.

NI 8.300.221.455

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	BANCO DE BOGOTA	062754387	414999863	20/06/2011	22.448.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	110 PTC SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-087033- -00000-0000

Fecha: 2011-07-12 16:35:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 160

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Junio 20 de 2011 - 18:02:45

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDADA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se esta presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDADA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-10-04-469 de un documento escrito en Inglés/ español, la cual para efectos del presente lleva el sello personal de **Martha Lucia Arciniegas M.**, Traductora e Intérprete Oficial en virtud de la Res 1523 /88 del Ministerio de Justicia.

Legalización de un Poder de Representación Legal conferido a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO, y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ otorgado por **JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.**

Firmado por:

Luc Quaghebeur

Titular Encargado

Certificación Notarial (Corporación)

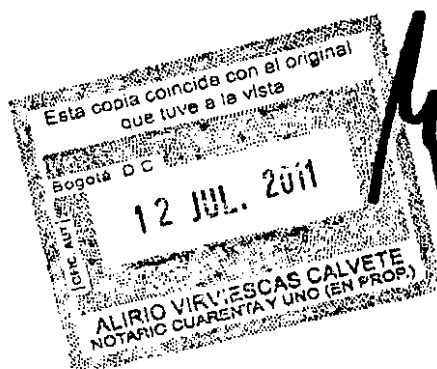
Certificación por la cual se certifica la firma precedente.

(fdo)

Notario Público
Jozef Coppens

Sigue legalización mediante Apostilla

Esta es una traducción fiel y completa de su original en inglés, de la cual se deja copia para futuras referencias



Martha Lucia Arciniegas
MARTHA LUCIA ARCINIEGAS M.
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RESOLUCION 1523/88 MINJUSTICIA

Traducción oficial Nr 0465/04 del holandés al español por Sylvia E. van Uden,
traductora oficial

Visto para legalización por nosotros, Jozef Coppens, notario con sede en B-
2350 Vosselaar, Bélgica, de la firma de Luc Quaghebeur, Vosselaar el
24/8/2004.

Vosselaar, 24-08-2004.

Sello redondo: Jozef Coppens, Notario de Vosselaar

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: BELGICA
- Esta Acta pública
2. ha sido firmada por Coppens Jozef
3. actuando en calidad de Notario
4. y está prevista del sello de Notaria Vosselaar

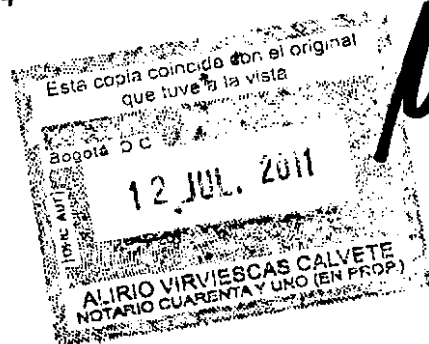
Atestada

5. en Bruselas
6. el 31-8-2004
7. por el Servicio Federal Estatal Asuntos Exteriores, Comercio Exterior y Cooperación
al Desarrollo
8. bajo el nr: 9805040831267560
9. sello

10. firma
[fue firmado]
C. Melard

Sello redondo: Servicio Federal Estatal Asuntos Exteriores, Comercio Exterior y
Cooperación al Desarrollo

ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA.
Bogotá, 2 octubre 2004




SYLVIA E. VAN UDEN REHEZ
TRADUCTOR E INTERPRETE
OFICIAL
RESOLUCION No. 1116
MINJUSTICIA 1995

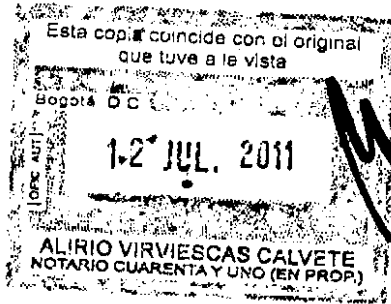
MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

368641
Sylvia Ven
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 OCT 24 A 11:16

UES
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.



JUZGADO DE COMERCIO

Acta de empresas

Nieuwe Kaai 41 – 2300 Turnhout

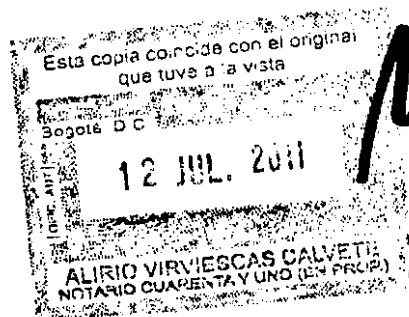
ACTA DE INSCRIPCION

Gastos: 30 euros

Nr rep. 2004.00307

ROR 426

El suscrito secretario judicial del juzgado de comercio con sede en Turnhout confirma que la sociedad anónima JANSSEN PHARMACEUTICA (JANSSEN PHARMACEUTICA NV) con sede en 2340 Beerse, Turnhoutseweg nr. 30, inscrito en el registro mercantil de Turnhout bajo el no. 4.203 y conocido en la base de datos empresarial bajo el no. 0403.834.160 fue fundada ante el notario Fernand Dierckx en Turnhout el 23 de octubre 1934. La sociedad también puede utilizar el nombre de “ Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development” dentro del marco de su departamento de investigación y desarrollo. El nombre de la sociedad y la denominación comercial pueden utilizarse o bien sea en forma separada o en forma conjunta. El capital social de la sociedad asciende a cincuenta millones doscientos mil euros (50.200.000). El objetivo social es: todas las acciones que tengan relación directa o indirecta con la investigación científica, la compra, la fabricación, el acondicionamiento o el reempaque, la representación, el otorgamiento de licencias o tomar licencia, la venta , la importación y la exportación, arrendar y en general cerrar toda clase de transacciones con relación a productos farmacéuticos, fitofarmacéuticos, veterinarios, biológicos, químicos o relacionados al igual que accesorios médicos, veterinarios, hospitalarios y de laboratorio, de equipos electrónicos y sus



SYLVIA E. VAN UDEN PEREZ
TRADUCTORA E INTERPRETE
OFICIAL
RESOLUCION No. 1116
MINISTERIO DE JUSTICIA 1995

accesorios, incluyendo computadores con destino a empresas comerciales, financieras e industriales, de artículos de textil, alimentos, artículos de plástico y de empaque; la participación en el amplio sentido de la palabra en todas sus formas posibles en otras empresas a fundar o ya fundadas con un fin similar y con todas las implicaciones comerciales y financieras del caso; bienes muebles o inmuebles que tengan una relación directa o indirecta con el fin social incluyendo todas las acciones de gestión hasta la obtención, mantenimiento, protección, entrega, venta, obtención y entrega de licencia de todas las patentes, marcas de fábrica y comerciales individuales y colectivas y derechos de autor, el transporte por cuenta de terceros. Sin embargo está excluido del objetivo actuar como arrendador en acuerdos de arriendo financieros en el sentido de la Decisión Real no 55 del 10 de noviembre de mil novecientos sesenta y siete.

Se nombraron como directivos de la sociedad a:

Collier Dirk, nacido el 15.02.1956 con domicilio en Fazantenlaan 20, B-2610 Wilrijk

De Chaffoy de Courcelles Didier, nacido el 19.11.1952, con domicilio en Karel van Byenlaan 4, B-2340 Beerse.

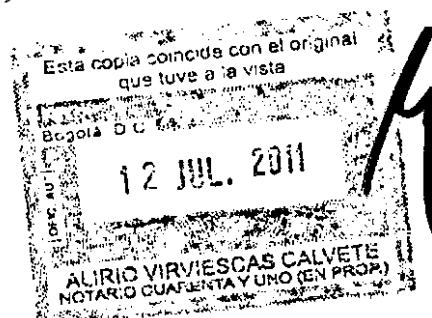
Hex René, nacido el 15.03.1951 con domicilio en Dorpsveldstraat 200, B-3290 Diest.

Lauwers Ludo, 27.09.1951 con domicilio en Mussenburglei 120, B-2650 Edegem

Papa John A, nacido el 01.11.1950 con domicilio en 3 Stonehenge Lane, Bridgewater NJ 08807 Estados Unidos

Peterson Per, nacido el 11.07.1944 con domicilio en 380 Mountain Road, Basking Ridge New Jersey 07920, Estados Unidos

Poon Christine, nacida el 23.06.1952, con domicilio Library Place, Princeron NJ 08540, Estados Unidos



SYLVIA E. VAN UDEN PEREZ
TRADUCTOR E INTERPRETE
OFICIAL
RESOLUCIÓN No. 1116
MINISTERIO DE JUSTICIA 1995

Sheffield David, nacido el 24.09.1948, con domicilio en Sapphire Drive 10,
West Windsor NJ 08550, Estados Unidos

Shetty Ajit, nacida el 20.05.1946, con domicilio en Wielewaalstraat 12, B-
2350 Vosselaar

Van Reet Gustaaf, nacido el 02.10.1945 con domicilio en Populierenlaan
14, B-2460 Kasterlee

Van Waeyenberge Piet, nacido el 27.10.1938 con domicilio en
Eikelenbergstraat 20, B-1700 Dilbeek

Weisman Harlan, nacido el 17.07.1952, con domicilio Rosemont,
Pennsylvania 19010, 759 Applegate Lane, Estados Unidos

No se emitió un fallo sobre declaración de quiebra y no se entregó una
solicitud para llegar a un acuerdo judicial. Tampoco se estableció un acta
de disolución de manera que a la fecha esta sociedad existe legalmente y la
información arriba mencionada es correcta.

Se procede a expedir el acta en Turnhout el 23 de agosto 2004.

El secretario

[fue firmado]

J. Meyvis

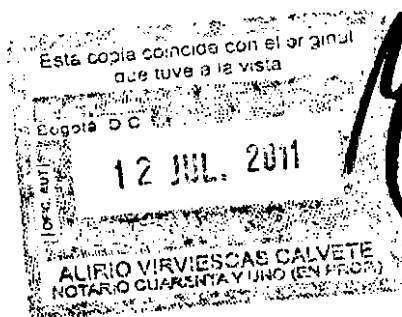
Sello redondo: Juzgado de Comercio de Turnhout

Nosotros, G. Somers, Juez encargado Presidente del Juzgado de Comercio
con sede en Turnhout declaramos que la firma del señor J. Meyvis,
secretario ante este juzgado es auténtica.

Turnhout, 24 de agosto 2004

[fue firmado]

presidente encargado, G. Somers



SYLVIA E. VAN UDEN PEREZ
TRADUCTOR E INTERPRETE
OFICIAL
RESOLUCION No. 1116
MINISTERIO DE JUSTICIA 1995

Sellos:

Visto por el servicio Federal estatal de Justicia para legalización de la firma de G. Somers. Bruselas, 30-08-2004.

El funcionario autorizado, Y van Hauwaert

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: BELGICA

Esta Acta pública

2. ha sido firmada por Van Hauwaert, Yannick

3. actuando en calidad de funcionario público

4. y está prevista del sello de FOD Justicia, Bruselas

Atestada

5. en Bruselas 6. el 31-8-2004

7. por el Servicio Federal Estatal Asuntos Exteriores, Comercio Exterior y Cooperación al Desarrollo

8. bajo el nr: 9805040831267340

9.sello

10. firma

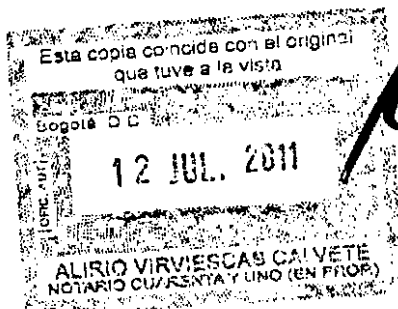
[fue firmado]

C. Melard

Sello redondo: Servicio Federal Estatal Asuntos Exteriores, Comercio Exterior y Cooperación al Desarrollo

ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA.

Bogotá, 2 octubre 2004



[Signature]
SYLVIA E. VAN UDEN PEREZ
TRADUCTOR E INTERPRETE
OFICIAL
RESOLUCION No. 1116
MINJUSTICIA 1995

Los abajo firmados, **JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Bélgica.

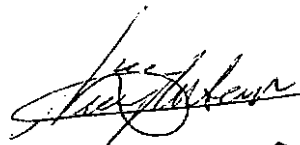
con domicilio en Turnhoutseweg 30
B-2340
Beerse, Bélgica.

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado



1110:QUAGHEBEUR

The undersigned, **JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.**, a corporation organized and existing under the laws of Belgium.

domiciled at Turnhoutseweg 30
B-2340
Beerse, Belgium.

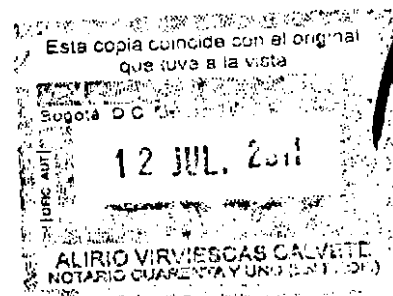
hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers, to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Bélgica

{ss

Beerse

Hoy de de 200 , compareció , a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es

de JANSSEN

PHARMACEUTICA N.V., la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de Bélgica, domiciliada en la ciudad de Beerse, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de Bélgica, que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en , con fecha , y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Belgium

{ss

Beerse

On this day of , 200 , personally came to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the

of JANSSEN

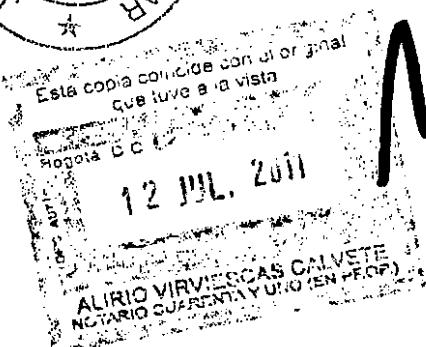
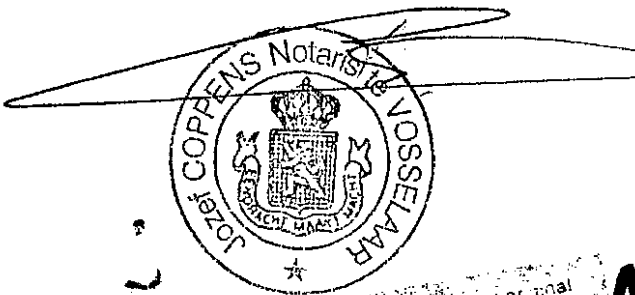
PHARMACEUTICA N.V., the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the Belgium, domiciled at the City of Beerse, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of Belgium, that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at , under date of

, and hereby certifies that under the laws of said County the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

Gezien door ons, Jozef COPPENS, notaris verblijvende te B-2350 Vosselaar, België voor echtverklaring van de handtekening van Luc Quaghebeur Vosselaar, de 24/12/2004

Vu par nous, Jozef COPPENS, notaire, résident à B-2350 Vosselaar, Belgique, pour certification de la signature de Luc Quaghebeur Vosselaar, le 24/12/2004



APOSTILLE

(Conventie van Den Haag van 5 oktober 1961)

1. Land: België
2. Deze openbare akte is ondertekend door: Coppens, Jozef
3. handelend in de hoedanigheid van: Notaris
4. is voorzien van het zegel/ de stempel van: Notaris Vosselaar

Voor echt verklaard

5. Te Brussel 6. Op: 31/08/2004
7. Door de Federale Overheidsdiens Buitenlandse Zaken, Buitenlandse Handelen-ontwikkelingssamenwerking

Onder nummer 9805040831267560



10. Ondertekening:

C. Melard

RECHTBANK VAN KOOPHANDEL
AKTEN VAN ONDERNEMINGEN
NIEUWE KAAI 41 - 2300 TURNHOUT
GETUIGSCHRIFT VAN INSCHRIJVING

KOST:30.00 euro

Rep.nr.2004.00307

ROR.426

De ondergetekende Griffier van de Rechtbank van Koophandel, zitting houdende te Turnhout, bevestigt dat de Naamloze Vennootschap JANSSEN PHARMACEUTICA (JANSSEN PHARMACEUTICA NV), met maatschappelijke zetel te 2340 Beerse, Turnhoutseweg nr 30, ingeschreven is in het handelsregister te Turnhout onder nr 4.203, en gekend bij de Kruispuntbank van Ondernemingen onder nr 0403.834.160, werd opgericht voor het ambt van Notaris Fernand Dierckx te Turnhout op 23 oktober 1934.

De vennootschap kan ook binnen het kader van haar onderzoeks- en ontwikkelingsdivisie de handelsnaam "Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development" gebruiken.

De vennootschapsnaam en de handelsbenaming kunnen zowel afzonderlijk als samen gebruikt worden.

Het maatschappelijk kapitaal van de vennootschap bedraagt vijftig miljoen tweehonderdduizend (50.200.000) Euro.

De maatschappelijke doelstelling is: alle handelingen die rechtstreeks of onrechtstreeks verband houden met het wetenschappelijk onderzoek, het aankopen, de fabricage, de conditionering of het wederverpakken, de vertegenwoordiging, het licentiegeven of het in licentie nemen, de verkoop, de import en de export, het in huur geven en in het algemeen het afsluiten van alle mogelijke transacties met betrekking tot farmaceutische, fytofarmaceutische, veterinaire, biologische, chemische of aanverwante produkten, alsmede medische, veterinaire, hospitaal- en laboratoriatuurbenodigdheden, van elektronische apparatuur en hun onderdelen, waaronder begrepen computers, bestemd voor commerciële, financiële en industriële ondernemingen, van textielwaren, voedingswaren, plasticwaren en verpakkingen; het deelnemen, in de ruimste betekenis op alle mogelijke wijze in andere op te richten of reeds opgerichte ondernemingen met gelijkaardig doel, diensvolgens over te gaan tot alle handels of financiële bewerkingen; roerende of onroerende, die rechtstreeks of onrechtstreeks met het maatschappelijk doel verbandhouden, met inbegrip van het stellen van alle daden van beheer en beschikking strekkende tot verkrijging, handhaving, bescherming, overdracht, verkoop, licentienemen en in licentiegeven van alle octrooien individuele en collectieve fabrieks- en handelsmerken en auteursrechten, het vervoer voor rekening van derden. Van het doel is echter uitgesloten, het optreden als verhuurder in financieringshuurovereenkomsten in de zin van het Koninklijk Besluit nummer 55 dd. tien november negentienhonderd zevenenzestig.

Tot bestuurders van de vennootschap werden benoemd :

Collier Dirk, geboren op 16.02.1956, wonende te Fazantenlaan 20, B-2610 Wilrijk

De Chaffoy de Courcelles Didier, geboren op 19.11.1952, wonende te Karel van Nyenlaan 4, B-2340 Beerse

Hex René, geboren op 15.03.1951, wonende te Dorpsveldstraat 200, B-3290 Diest

Lauwers Ludo, 27.09.1951, wonende te Mussenburglei 120, B-2650 Edegem

Papa John A, geboren op 01.11.1950, wonende te 3 Stonehenge Lane, Bridgewater, NJ 08807, USA

Peterson Per, geboren op 11.07.1944, wonende te 380 Mountain Road, Basking Ridge, New Jersey 07920, USA

Poon Christine, geboren op 23.06.1952, wonende te 72 Library Place, Princeton, NJ 08540, USA

Sheffield David, geboren op 24.09.1948, wonende te Sapphire Drive 10, West Windsor, NJ 08550, USA

Shetty Ajit, geboren op 20.05.1946, wonende te Wielewaalstraat 12, B-2350 Vosselaar

Van Reet Gustaaf, geboren op 02.10.1945, wonende te Populierenlaan 14, B-2460 Kasterlee

Van Waeyenberge Piet, geboren op 27.10.1938, wonende te Eikelenbergstraat 20, B-1700 Dilbeek

Weisman Harlan, geboren op 17.07.1952, wonende te Rosemont, Pennsylvania 19010, 759 Applegate Lane, USA

Er werd geen vonnis tot faillietverklaring uitgesproken en er werd geen aanvraag ingediend tot het bekomen van een gerechtelijk akkoord.

Er is eveneens geen akte tot ontbinding neergelegd, zodat deze vennootschap op vandaag rechtmatig bestaat en de bovenstaande gegevens juist zijn.

Ter oorkonde waarvan het tegenwoordig getuigschrift wordt afgeleverd, te Turnhout op 23 augustus 2004

de griffier,

J. Meyvis

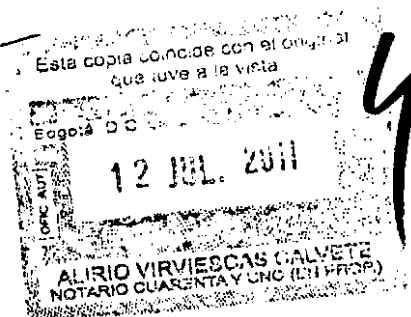


Wij, G. Somers, Rechter and Voorzitter van de Rechtbank van Koophandel, zitting houdende te Turnhout, verklaren echt en authentiek de handtekening van de Heer J. Meyvis, griffier bij deze Rechtbank, hiervoor gekwalificeerd.

Turnhout, 24 augustus 2004



de wnd. Voorzitter



AA

Gezien in de FEDERALE OVERHEIDSDIENST
JUSTITIE voor legalisatie van de handtekening
van G. Soxers

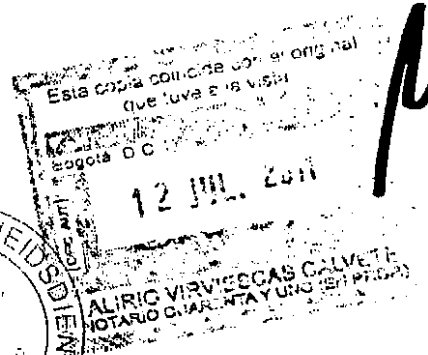
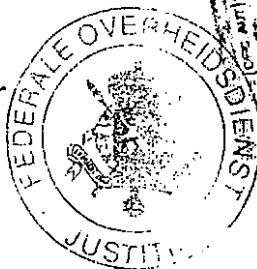
Brussel,

30-08-2004

De gemachtigde ambtenaar,

Y. Van Hauwaert

Y VAN HAUWAERT



APOSTILLE

(Conventie van Den Haag van 5 oktober 1961)



1. Land: België
2. Deze openbare akte is ondertekend door: Van Hauwaert, Yannick
3. handelend in de hoedanigheid van: Ambtenaar
4. is voorzien van het zegel/ de stempel van: FOD Justitie
Bruxelles

Voor echt verklaard

5. Te Brussel 6. Op: 31/08/2004
7. Door de Federale Overheidsdienst Buitenlandse Zaken, Buitenlandse Handel en Ontwikkelingssamenwerking
8. Onder nr. **9805040831267340**
9. Zegel/Stempel
10. Ondertekening



C. Melard
C. Melard

JANSSEN PHARMACEUTICA NV

SOLICITUD DE PATENTE PCT

SOLICITUD INTERNACIONAL No.PCT/EP2010/051316

ARTE FINAL (1)

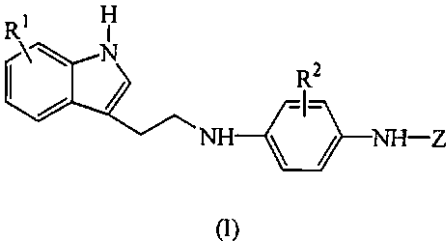
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISI3N DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACI3N SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT		
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 12-07-11 (30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) Pa3s 09152089.0 04-02-09 EP		(51) Int Cl: C07D 401/12 (71) Solicitante(s): JANSSEN PHARMACEUTICA NV (72) Inventor(es): SCHOENTJES Bruno; DESCAMPS, Sophie y AMBLARD, Nathalie, Claude, Isabelle. (74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 04-09-11 (86) Datos relativos a la presentaci3n de la solicitud PCT Fecha de presentaci3n de la solicitud: 03-02-10 No. de solicitud: PCT/EP2010/051316		(87) Publicaci3n internacional Fecha: 12-08-10 No. publicaci3n: WO 2010/089327 A3
(54) T3tulo: DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES ANTIC3NCER		

Resumen.-Reivindicaci3n(es):

Sector: Compuestos heteroc3clicos que comprenden n3tr3geno como 3nico hetero3tomo y que act3an como agentes antineopl3sicos

Resumen.-

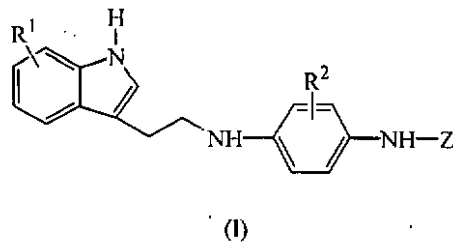
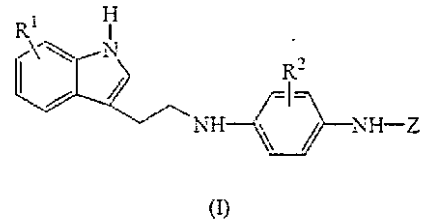
La presente invenci3n provee compuestos de la f3rmula (I), su uso para el tratamiento del c3ncer, as3 como composiciones farmac3uticas que comprenden dichos compuestos de la f3rmula (I).



		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
Industria y Comercio		DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES	
SUPERINTENDENCIA		TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS	
PATENTE DE INVENCION		PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐	
(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud: 12-07-11	
(51) Clasificación Internacional: C07D 401/12			
(71) Solicitante(s): JANSSEN PHARMACEUTICA NV			
(72) Inventor(es): SCHOENTJES Bruno; DESCAMPS, Sophie y AMBLARD, Nathalie, Claude, Isabelle.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	09152089.0	04-02-09	EP
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 04-09-11		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 12-08-10	
Fecha de presentación de la solicitud: 03-02-10		N° publicación: WO 2010/089327 A3	
No. de solicitud: PCT/EP2010/051316			
(54) Título: DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES ANTICÁNCER			

74

 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO									
SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION PCT <u> X </u> MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL									
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 12-07-11 (51) Clasificación Internacional: C07D 401/12									
(71) Solicitante(s): JANSSEN PHARMACEUTICA NV									
(72) Inventor(es): SCHOENTJES Bruno; DESCAMPS, Sophie y AMBLARD, Nathalie, Claude, Isabelle.									
(74) Apoderado: ALICIA LLORED A RICAURTE									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">(30) Prioridad</td> <td style="width: 15%;">(31) <i>No. Prioridad</i></td> <td style="width: 15%;">(32) <i>Fecha</i></td> <td style="width: 15%;">(33) <i>País</i></td> </tr> <tr> <td></td> <td>09152089.0</td> <td>04-02-09</td> <td>EP</td> </tr> </table>		(30) Prioridad	(31) <i>No. Prioridad</i>	(32) <i>Fecha</i>	(33) <i>País</i>		09152089.0	04-02-09	EP
(30) Prioridad	(31) <i>No. Prioridad</i>	(32) <i>Fecha</i>	(33) <i>País</i>						
	09152089.0	04-02-09	EP						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;"> (85) Fecha límite inicio fase nacional: 04-09-11 (86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT Fecha de presentación de la solicitud: 03-02-10 No. de solicitud: PCT/EP2010/051316 </td> <td style="width: 50%;"> (87) Publicación internacional: Fecha: 12-08-10 No. Publicación : WO 2010/089327A3 </td> </tr> </table>		(85) Fecha límite inicio fase nacional: 04-09-11 (86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT Fecha de presentación de la solicitud: 03-02-10 No. de solicitud: PCT/EP2010/051316	(87) Publicación internacional: Fecha: 12-08-10 No. Publicación : WO 2010/089327A3						
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 04-09-11 (86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT Fecha de presentación de la solicitud: 03-02-10 No. de solicitud: PCT/EP2010/051316	(87) Publicación internacional: Fecha: 12-08-10 No. Publicación : WO 2010/089327A3								
(54) Título: DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES ANTICÁNCER									
(57) Resumen.-Reivindicación (es): Sector: Compuestos heterocíclicos que comprenden nitrógeno como único heteroátomo y que actúan como agentes antineoplásicos Resumen.- La presente invención provee compuestos de la fórmula (I), su uso para el tratamiento del cáncer, así como composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos de la fórmula (I).									



18

PATENT COOPERATION TREATY

RECEIVED

- 1 -09- 2010

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT Patent department

To:
JANSSEN PHARMACEUTICA NV
Turnhoutseweg 30
B-2340 Beerse
BELGIQUE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Applicant's or agent's file reference PRD3068-PCT	Date of mailing (day/month/year) 31 August 2010 (31-08-2010)
International application No. PCT/EP2010/051316	International filing date (day/month/year) 3 February 2010 (03-02-2010)
Applicant JANSSEN PHARMACEUTICA NV	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

31-10-2010

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ With regard to any protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
- ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, National Chapters.

Name and mailing address of the International Searching Authority  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer GANZER, Maria Tel: +49 (0)30 25901-716
--	---

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Annex B).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, International Phase, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet or sheets containing a complete set of claims in replacement of all the claims previously filed must be submitted.

Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively in Arabic numerals (Section 205(a)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the International Preliminary Examining Authority did not act as International Searching Authority and where it has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b), be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. If a demand is made, the applicant may submit to the International Preliminary Examining Authority a reply to the written opinion together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43bis.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, National Chapters.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PRD3068-PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2010/051316	International filing date (day/month/year) 03/02/2010	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 04/02/2009
Applicant JANSSEN PHARMACEUTICA NV		

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

This international search report consists of a total of 3 sheets.

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

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

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

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2010/051316

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D401/12 A61K31/435 A61K31/44 A61P35/00
ADD.

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)
C07D

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

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/032631 A (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]; LACRAMPE JEAN FERNAND ARMAND [FR]; MEYE) 30 March 2006 (2006-03-30) cited in the application page 1, lines 5-8; claims 1,6-9; compounds 2,4,6,7,104,110,112,180,187,188,196 -----	1-15
A	WO 02/078693 A (LILLY CO ELI [US]; CHEN ZHAOGEN [US]; COHEN MICHAEL PHILIP [US]; FISHE) 10 October 2002 (2002-10-10) * claims 1, 8, 9, 21-49; page 65, compounds 123-125; page 72, compounds 185, 186 * -----	1



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family 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 referring 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.

8 document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 August 2010

Date of mailing of the international search report

31/08/2010

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Beyss-Kahana, Ellen

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/051316

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006032631	A	30-03-2006	AR 053412 A1	09-05-2007
			AU 2005286525 A1	30-03-2006
			CA 2579915 A1	30-03-2006
			CN 101023074 A	22-08-2007
			EP 1809622 A1	25-07-2007
			KR 20070058622 A	08-06-2007
			US 2008039472 A1	14-02-2008

WO 02078693	A	10-10-2002	AT 372768 T	15-09-2007
			AU 2002303094 B2	23-11-2006
			BR 0208179 A	02-03-2004
			CA 2442114 A1	10-10-2002
			CN 1610547 A	27-04-2005
			CZ 20032614 A3	17-03-2004
			DE 60222396 T2	15-05-2008
			DK 1379239 T3	07-01-2008
			EP 1379239 A2	14-01-2004
			ES 2292758 T3	16-03-2008
			HK 1061649 A1	26-09-2008
			HR 20030771 A2	31-08-2005
			HU 0303651 A2	01-03-2004
			IL 157651 A	17-02-2010
			JP 2004532209 T	21-10-2004
			MX PA03008726 A	12-12-2003
			NO 20034289 A	28-11-2003
			NZ 527815 A	27-05-2005
			PL 364458 A1	13-12-2004
			PT 1379239 E	06-12-2007
			SK 12052003 A3	08-09-2004



- (51) International Patent Classification:
C07D 401/12 (2006.01) A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/EP2010/051316
- (22) International Filing Date:
3 February 2010 (03.02.2010)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
09152089.0 4 February 2009 (04.02.2009) EP
- (71) Applicant (for all designated States except US):
JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE/BE]; Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): SCHOENTJES, Bruno [FR/BE]; Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE). DESCAMPS, Sophie [FR/FR]; Janssen-Cilag, Campus de Maigremont, BP 615, F-27106 Val de Reuil Cedex (FR). AMBLARD, Nathalie, Claudie, Isabelle [FR/FR]; Janssen-Cilag, Campus de Maigremont, B.P. 615, F-27106 Val de Reuil Cedex (FR).
- (74) Common Representative: JANSSEN PHARMACEUTICA NV; Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,

DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

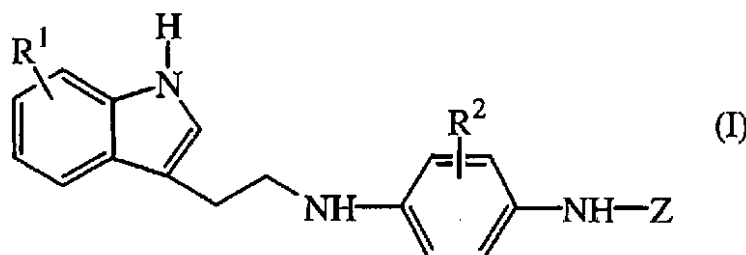
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

- (88) Date of publication of the international search report:
21 October 2010

(54) Title: INDOLE DERIVATIVES AS ANTICANCER AGENTS



(57) Abstract: The present invention provides compounds of formula (I), their use for the treatment of cancer as well as pharmaceutical compositions comprising said compounds of formula (I).

WO 2010/089327 A3

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

PCT

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2010/051316

International filing date (day/month/year)
03.02.2010

Priority date (day/month/year)
04.02.2009

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D401/12 A61K31/435 A61K31/44 A61P35/00

Applicant
JANSSEN PHARMACEUTICA NV

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
Gitschiner Str. 103
D-10958 Berlin
Tel. +49 30 25901 - 0
Fax: +49 30 25901 - 840

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Beyss-Kahana, Ellen

Telephone No. +49 30 25901-344



Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
- a. (means)
- ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
- b. (time)
- ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43b/s.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-15</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-15</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-15</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2010/051316

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Re Item V

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

Reference is made to the following documents:

- D1 WO 2006/032631 A (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]; LACRAMPE JEAN FERNAND ARMAND [FR]; MEYE) 30 March 2006 (2006-03-30) cited in the application
- D2 WO 02/078693 A (LILLY CO ELI [US]; CHEN ZHAOGEN [US]; COHEN MICHAEL PHILIP [US]; FISHE) 10 October 2002 (2002-10-10)

1. Novelty

D1 (page 1, lines 5 - 8; claims 1,6 - 9; compounds 2, 4, 6, 7, 104, 110, 112, 180, 187, 188, 196; table F-1) discloses compounds similar to present formula (I) wherein $R^1 = H, OMe$; $R^2 = H, OEt$; $R^3 = \text{hydroxyalkyl}$; $R^4/R^5 = OH$ as inhibitors of the interaction between MDM2 and p53 to be used for the treatment of cancer. The novelty conferring features are the different meanings for R^1 .

D2 (claims 1, 8, 9, 21 - 49; page 65, compounds 123 - 125; page 72, compounds 185, 186) discloses compounds similar to present formula (I) having a moiety R^1 which corresponds to the indol-3-yl rest, X meaning NH and R^4 corresponds to present Z may be phenyl to be used for the treatment of i.e cognitive disorders. The distinguishing features are represented by the moiety Z, an additional CH_2 -group between the amino function and the phenyl ring and a different use.

The subject-matter of present claims 1-15 is novel.

2. Inventive Step

D1 is considered to represent the closest prior art, since it discloses similar

compounds for the same use. The compounds of present claim 1 differ only in the moiety R¹. The application as filed does not contain any evidence that these distinguishing features are responsible for an unexpected effect.

It is stressed that the comparative data at pages 68-74 of the present description have been carefully examined. However, for a meaningful comparison the structurally closest compound known from the prior art, namely the compounds wherein a substituent in place of R¹ and the moiety z-2 are present, should have been used i.e. compounds 112, 196.

Consequently, the problem underlying the present application should be seen in the provision of further inhibitors of the interaction between MDM2 and p53 useful in treating cancer. In view of the biological data given in the present application it is credible that this problem has actually been solved by the subject-matter of claim 1.

It should be noted that the mode of action of compounds is an intrinsic property of the compounds and cannot be a base for an inventive step acknowledgement. Moreover the discovery of a mechanism of action cannot make a known use of a known compound novel and also inventive.

For a skilled worker, looking for further inhibitors of the interaction between MDM2 and p53, the replacement of a methoxy by a hydroxalkyl or alkenyl group at the indolyl moiety is a routine measure which belongs to the common practice in the field of medicinal chemistry.

In the absence of any unexpected effect the compounds according to claim 1 are considered to be an obvious solution to the problem of the present applicant, which therefore lack inventive step.

Therefore the subject-matter of present claims 1-15 is not considered being inventive.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

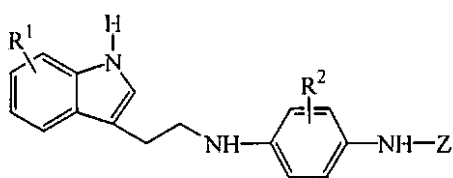
The scope of claim 14 has already partially been disclosed in claims 1-10 and is therefore regarded as being superfluous matter, which is prohibited according to Rule 6.4 PCT.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES ANTICÁNCERRESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención provee compuestos de la fórmula (I), su uso para el
tratamiento del cáncer, así como composiciones farmacéuticas que comprenden
dichos compuestos de la fórmula (I).



(I)

SECTOR: Compuestos heterocíclicos que comprenden nitrógeno como único
heteroátomo y que actúan como agentes antineoplásicos

DERIVADOS DE INDOL COMO AGENTES ANTICÁNCER

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones de indol que contienen dichos compuestos que actúan como agentes anticáncer. Más aún, la presente invención provee procesos para la preparación de los compuestos descritos, composiciones que los comprenden y métodos para usarlos, por ejemplo como medicina, en particular para el tratamiento de cáncer.

La presente solicitud reivindica prioridad sobre la solicitud de patente europea N.º 09152089.0, la cual se incorpora a la presente por referencia. Sin estar ligado a ninguna teoría, en la actualidad que cree que aunque MDM2 y p53 representan elementos clave en la biología de la célula tumoral y tienen papeles clave en la respuesta celular a la agresión celular o el estrés, y aunque los presentes compuestos incrementan la expresión de p53, en apariencia es posible que no representen los principales objetivos moleculares por los cuales los presentes compuestos desencadenan su potente actividad antitumoral preclínica demostrada. Las observaciones iniciales señalan hacia un efecto directo o indirecto sobre la síntesis de ADN y/o la respuesta replicativa al estrés como aval de la actividad preclínica antitumoral observada de los compuestos. Los presentes compuestos también exhiben efectos antiproliferativos en células tumorales que carecen de p53, carecen de p53 funcional, o tienen p53 mutante, y además pueden sensibilizar las células tumorigénicas para la quimioterapia y radioterapia.

p53 es una proteína supresora de tumor que juega un papel de pivote en la regulación del balance entre la proliferación celular y la detención del crecimiento celular/apoptosis. En condiciones normales, la vida media de p53 es muy corta short y en consecuencia, el nivel de p53 en las células es bajo. Sin embargo, en respuesta al daño de ADN celular o al estrés celular (por ejemplo activación de oncogén, erosión de telómero, hipoxia), los niveles de p53 aumentan. Este

incremento de los niveles de p53 conduce a la activación de la transcripción de una cantidad de genes que dirigen la célula a la detención del crecimiento o hacia los procesos de apoptosis. En consecuencia, una importante función de p53 consiste en prevenir la proliferación incontrolada de las células dañadas y así
5 proteger el organismo contra el desarrollo de cáncer. El término "MDM2" (Murine Double Minute 2) se usa en la presente con el significado obtenido como resultado de la expresión del gen mdm2. Dentro del significado de este término, MDM2 abarca todas las proteínas codificadas por mdm2, sus mutantes, sus proteínas seccionadas alternativas, y sus proteínas fosforiladas. Además, tal como se usa
10 en la presente, el término "MDM2" incluye análogos de MDM2, por ejemplo MDMX, también denominado MDM4, y homólogos y análogos de MDM2 de otros animales, por ejemplo el homólogo humano HDM2 o el análogo humano HDMX. MDM2 es un regulador negativo clave de la función de p53. Forma un rizo autorregulado negativo al fijarse al dominio de transactivación amino terminal de
15 p53 y, en consecuencia, MDM2 inhibe la capacidad de p53 para activar la transcripción y dirige p53 para la degradación proteolítica. En condiciones normales, este rizo regulador es responsable de mantener los niveles bajos de p53.

20 Antecedentes de la invención

El documento JP 11130750 describe entre otros, los derivados sustituidos de fenilaminocarbonilindolilo como antagonistas de receptor de 5-HT.

El documento EP1129074 describe amidas de ácido antranílico como inhibidores de receptores de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y
25 de utilidad en el tratamiento de trastornos angiogénicos. El documento WO 01/42224 provee derivados carboxiamido para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer. El documento EP 1317443 describe derivados ter-amina tricíclicos, de

utilidad como moduladores de receptor de quimiocina CXCR4 o CCR5 para tratar virus de inmunodeficiencia human y virus de inmunodeficiencia felina.

El documento EP 1379239 describe N-(2-ariletil)bencilaminas como antagonistas del 5-HT₆ receptor. El documento WO 00/15357 provee derivados de piperazin-4-fenilo como inhibidores de la interacción entre MDM2 y p53. El documento EP1137418 provee compuestos tricíclicos para restablecer la estabilidad conformacional de una proteína de la familia de p53. El documento WO03/040402 provee compuestos que inhiben las interacciones entre proteínas, tales como la interacción entre MDM2 y p53. El documento EP 1443937 describe 1,4-benzodiazepinas sustituidas y sus usos como inhibidores de las interacciones MDM2-p53. El documento EP 1458380 provee cis-2,4,5-trifenil-imidazolonas que inhiben la interacción de la proteína MDM2 con péptidos simil p53 y que tienen actividad antiproliferativa.

El documento EP 1519932 describe compuestos bisarilsulfonamida que se fijan a MDM2 y que se pueden usar en la terapia de cáncer.

Los documentos WO 2006/032631, WO 2007/107543, WO 2007/107545, WO 2009/019274, WO 2009/037308 y WO 2009/037343 describen inhibidores de la interacción entre MDM2 y p53.

Hay una necesidad de moléculas pequeñas efectivas que tengan potente efecto inhibidor contra el crecimiento de las células tumorales, que tengan un amplio perfil de seguridad, y menos efectos secundarios indeseables.

Los compuestos de la presente invención muestran excelente actividad *in vitro* y excelentes efectos antitumorales *in vivo*. Tienen baja afinidad por las enzimas P450, que reducen el riesgo de interacción adversa fármaco-fármaco, lo cual permite un margen de seguridad más amplio. Más aún, los compuestos de la presente invención tienen bajos efectos neurológicos inducidos por fármacos y

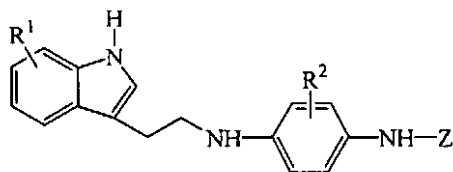
tienen un perfil cardiovascular mejorado que puede influir favorablemente sobre la toxicidad limitante de la dosis de los compuestos.

Descripción de la invención

- 5 La presente invención provee compuestos, composiciones y métodos para tratar cáncer. Además, los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para mejorar la efectividad de la quimioterapia y la radioterapia.

La presente invención se refiere a compuestos de la fórmula (I)

10



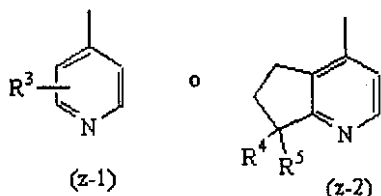
(I)

incluso cualquiera de sus formas estereoquímicamente isoméricas, en donde

R¹ es hidroxialquilo C₁₋₆ o alquenilo C₂₋₆; siempre que el sustituyente de R¹ se ubique en la posición 6 ó 7 del resto indol;

- 15 R² es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

Z es un radical seleccionado de



R³ es hidrógeno o hidroxialquilo C₁₋₄;

R⁴ es hidroxilo o alquilo C₁₋₄;

- 20 R⁵ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄; o

R⁴ y R⁵ se toman juntos para formar oxo;

una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

Los compuestos de la fórmula (I) también existen en sus formas tautoméricas. Aunque no se indica explícitamente en la fórmula anterior, se pretende que dichas formas estén incluidas en el alcance de la presente invención.

5 La presente invención también se refiere al uso de un compuesto de la fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para tratar cáncer y a un compuesto de la fórmula (I) para usar en el tratamiento de cáncer.

A continuación se explican numerosos términos usados en las anteriores definiciones y en adelante se explican en la presente. Estos términos en
10 ocasiones se usan como tales o en términos compuestos.

Alquilo C_{1-4} como grupo o parte de un grupo define radicales hidrocarbonatos saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 4 átomos de carbono tales como metilo, etilo, propilo, 1-metiletilo, butilo; alquilo C_{1-6} como grupo o parte de un grupo define radicales hidrocarbonatos saturados de
15 cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tales como el grupo definido por alquilo C_{1-4} y pentilo, hexilo, 2-metilbutilo y similares. Alquenilo C_{2-6} define radicales hidrocarbonatos de cadena lineal o ramificada que contienen un doble enlace y que tienen de 2 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, etenilo, 2-propenilo, 3-butenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 3-metil-2-butenilo, y
20 similares.

Las líneas trazadas desde los sustituyentes hacia el interior de los sistemas de anillos indican que el enlace puede estar adosado a cualquiera de los átomos del anillo adecuados.

Para el uso terapéutico, las sales de los compuestos de la fórmula (I) son
25 aquellas en las cuales el contraión es farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, las sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables también se pueden usar, por ejemplo, en la preparación o la purificación de un compuesto

farmacéuticamente aceptable. Todas las sales, sean farmacéuticamente aceptables o no, están incluidas en el ámbito de la presente invención.

Las sales farmacéuticamente aceptables mencionadas con anterioridad o en adelante en la presente pretenden comprender las formas de sales por adición de ácido no tóxicas terapéuticamente activas que pueden formar los compuestos de la fórmula (I). Estos últimos se pueden obtener convenientemente al tratar la forma básica con los ácidos apropiados tales como ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácidos hidrohálicos, por ejemplo ácido clorhídrico, bromhídrico y similares; ácido sulfúrico; ácido nítrico; ácido fosfórico y similares; u ácidos orgánicos, por ejemplo, ácidos acético, propanoico, hidroxiacético, 2-hidroxi-
10 propanoico, 2-oxopropanoico, oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, 2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico, metansulfónico, etansulfónico, bencensulfónico, 4-metilbencensulfónico, ciclohexansulfónico, 2-hidroxibenzoico, 4-amino-2-hidroxibenzoico y ácidos similares. Por otra parte, la
15 forma salina se puede convertir en la forma de base libre por tratamiento con álcali.

Los compuestos de la fórmula (I) que contienen protones ácidos se pueden convertir en sus formas de sales no tóxicas terapéuticamente activas por adición de metal o amina por tratamiento con las bases orgánicas e inorgánicas
20 adecuadas. Las sales farmacéuticamente aceptables mencionadas con anterioridad o más adelante en la presente pretenden también comprender las formas de sales terapéuticamente activas no tóxicas por adición de metal o amina (formas de sales por adición de base) que pueden formar los compuestos de la fórmula (I). Las formas de sales por adición de base apropiadas comprenden, por
25 ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, las sales con bases orgánicas, por ejemplo aminas primarias, secundarias y terciarias

alifáticas y aromáticas tales como metilamina, etilamina, propilamina, isopropilamina, los cuatro isómeros de butilamina, dimetilamina, dietilamina, dietanolamina, dipropilamina, diisopropilamina, di-*n*-butilamina, pirrolidina, piperidina, morfolina, trimetilamina, trietilamina, tripropilamina, quinuclidina, 5 piridina, quinolina e isoquinolina, las sales de benzatina, *N*-metil-D-glucamina, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol, hidrabamina, y las sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

A su vez, la forma de sal se puede convertir en la forma de ácido libre por tratamiento con ácido.

10 El término sal también comprende las sales de amonio cuaternario (aminas cuaternarias) que pueden formar los compuestos de la fórmula (I) por reacción entre un nitrógeno básico de un compuesto de la fórmula (I) y un agente de cuaternización apropiado, tal como, por ejemplo, C₁₋₆alquilhaluro, arilhaluro, alquil C₁₋₆carbonilhaluro, arilcarbonilhaluro, o arilalquil C₁₋₆-haluro opcionalmente 15 sustituido, por ejemplo metilyoduro o bencilyoduro, en donde arilo representa fenilo no sustituido o sustituido. También se pueden usar otros reactivos con buenos grupos lábiles, tales como por ejemplo alquilo C₁₋₆ trifluorometansulfonatos, alquil C₁₋₆-metansulfonatos, y alquil C₁₋₆-*p*-toluensulfonatos. Una amina cuaternaria tiene un nitrógeno con carga positiva. 20 Los contraiones farmacéuticamente aceptables incluyen cloro, bromo, iodo, trifluoroacetato, acetato, triflato, sulfato, sulfonato. El contraión de elección se puede introducir mediante el uso de resinas de intercambio iónico.

Con preferencia, el término sal significa las formas de sal por adición de ácido farmacéuticamente aceptables y las sales por adición de metal o amina 25 farmacéuticamente aceptables.

El término solvato comprende las formas de adición de hidratos y solvente que pueden formar los compuestos de la fórmula (I), así como sus sales

correspondientes. Los ejemplos de dichas formas son por ejemplo hidratos, alcoholatos y similares.

Se apreciará que algunos de los compuestos de la fórmula (I) y sus sales y solvatos pueden contener uno o más centros de quiralidad y existir como formas
5 estereoquímicamente isoméricas.

La expresión "formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de la fórmula (I)", tal como se usa con anterioridad en la presente, define todos los compuestos posibles conformados por los mismos átomos ligados por la misma secuencia de enlaces, pero con diferentes estructuras tridimensionales, que no
10 son intercambiables, que pueden poseer los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables o derivados fisiológicamente funcionales.

A menos que se mencione o indique otra cosa, la designación química de los compuestos denota la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, así como cada una de las formas isoméricas de
15 la fórmula (I) y sus sales o solvatos, sustancialmente libres, es decir asociados con menos de 50 %, con preferencia menos de 20 %, con mayor preferencia menos de 10 %, con aún mayor preferencia menos de 5 %, con mayor preferencia aún menos de 2 % y con máxima preferencia menos de 1 % del(os) otro(s) isómero(s). En consecuencia, cuando un compuesto de la fórmula (I) se especifica
20 por ejemplo como R, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero S. O si por ejemplo un compuesto de la fórmula (I) se especifica como E, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero Z.

En particular, los centros estereogénicos pueden tener la configuración R o S; los sustituyentes sobre radicales bivalentes cíclicos (parcialmente) saturados
25 pueden tener la configuración *cis* o *trans*. Los compuestos que abarcan dobles enlaces pueden tener una estereoquímica E (*entgegen*) o Z (*zusammen*) en

dichos dobles enlaces. Los términos cis, trans, R, S, E y Z son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de la fórmula (I) obviamente pretenden estar abarcados en el alcance de la presente
5 invención.

Son de especial interés los compuestos de la fórmula (I) que son estereoquímicamente puros.

Según las convenciones de nomenclatura CAS, cuando dos centros estereogénicos de configuración absoluta conocida están presentes en una
10 molécula, se asigna un descriptor *R* o *S* (sobre la base de la regla de secuencia de Cahn-Ingold-Prelog) al centro quiral de número menor, el centro de referencia. La configuración del segundo centro estereogénico se indica mediante el uso de descriptores relativos [*R**,*R**] o [*R**,*S**], en donde *R** siempre se especifica como centro de referencia y [*R**,*R**] indica los centros con la misma quiralidad y [*R**,*S**]
15 indica los centros de distinta quiralidad. Por ejemplo, si el centro quiral de número menor en la molécula tiene una *S* configuración *R* o *S* y el segundo centro es *R*, el estereodescriptor se especificaría como *S*-[*R**,*S**]. Si se usan "α" y "β": la posición del sustituyente de mayor prioridad en el átomo de carbono asimétrico en el sistema de anillo que tiene el menor número del anillo siempre está
20 arbitrariamente en la posición "α" del plano medio determinado por el sistema del anillo. La posición del sustituyente de mayor prioridad sobre los demás átomos de carbono asimétricos en el sistema de anillo respecto de la posición del sustituyente de mayor prioridad sobre el átomo de referencia se denomina "α", si está en el mismo lado del plano medio determinado por el sistema del anillo, o "β",
25 si está en el otro lado del plano medio determinado por el sistema del anillo.

Cuando se usan los términos *cis* y *trans* en la presente, es de acuerdo con la nomenclatura de Chemical Abstracts (J. Org. Chem. 1970, 35 (9), 2849-2867), y se refiere a la posición de los sustituyentes sobre el resto de un anillo.

Los compuestos de (I) se pueden sintetizar en la forma de mezclas racémicas de enantiómeros que se pueden separar entre sí según procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Los compuestos racémicos de la fórmula (I) pueden ser convertidos en las correspondientes formas de sales diastereoméricas por reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sales diastereoméricas luego se separan, por ejemplo, por cristalización selectiva o fraccionada, y los enantiómeros se liberan de allí mediante álcalis. Una alternativa para separar las formas enantioméricas de los compuestos de la fórmula (I) incluye la cromatografía líquida mediante el uso de una fase estacionaria quiral. Dichas formas puras estereoquímicamente isoméricas también se pueden derivar de las correspondientes formas puras estereoquímicamente isoméricas de los materiales de inicio apropiados, siempre que la reacción tenga lugar estereoespecíficamente. Con preferencia, si se desea un estereoisómero específico, dichos compuesto son sintetizados por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplean ventajosamente materiales enantioméricamente puros.

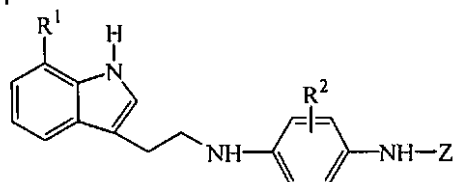
La presente invención también pretende incluir cualquier isótopo de los átomos presentes en los compuestos de la invención. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio, y los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

Sierre que se use en adelante en la presente, la expresión "compuestos de la fórmula (I)" o "compuestos de la presente invención" pretende incluir también las sales farmacéuticamente aceptables, en particular las sales por adición de ácido o base (metal o amina), todas las formas estereoisoméricas, los solvatos, y

todas las formas cristalinas polimórficas o formas amorfas.

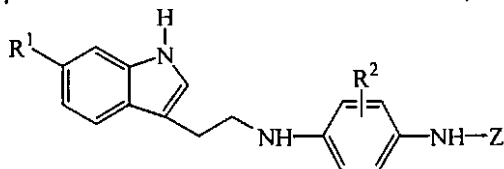
Siempre que se usan con anterioridad o más adelante en la presente, los sustituyentes se pueden seleccionar cada uno independientemente de una lista de numerosas definiciones, se pretenden todas las posibles combinaciones que sean
5 químicamente posibles.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), en donde el sustituyente R^1 está ubicado en la posición 7 del resto indol. Por ende, compuestos que tienen la siguiente fórmula



(I-a)

10 Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), en donde el sustituyente R^1 está ubicado en la posición 6 del resto indol. Por ende, compuestos que tienen la siguiente fórmula



(I-b)

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos
15 compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b), en donde R^1 es hidroxialquilo C1-6, en particular $-\text{CH}_2\text{-OH}$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-OH}$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-OH}$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$, $-\text{CH}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{-OH}$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHOH-CH}_3$, más en particular $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-OH}$.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b), en donde R^1 es alquenilo C_{2-6} , en
20 particular $-\text{CH=CH}_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^2 es hidrógeno.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos
5 compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^2 es alquilo C_{1-4} , en particular metilo.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas
10 interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^3 representa hidrógeno.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^3
15 representa hidroxialquilo C_{1-4} , en particular $-CH_2-OH$. Con preferencia, este sustituyente R^3 está ubicado en la posición 2 del resto piridina.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^4
20 representa hidroxilo.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^4 representa alquil C_{1-4} -oxi, en particular metoxi.

25 Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas

interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^5 representa hidrógeno.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas
5 interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^5 representa alquilo C_{1-4} , en particular metilo.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^4 y R^5
10 se toman juntos para tomar oxo.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^4 es hidroxilo y R^5 es hidrógeno.

15 Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^4 es hidroxilo y R^5 es alquilo C_{1-4} , en particular metilo.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos
20 compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde R^4 es alquil C_{1-4} -oxi y R^5 es hidrógeno.

Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas
25 interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde Z es un radical de la fórmula (z-1).

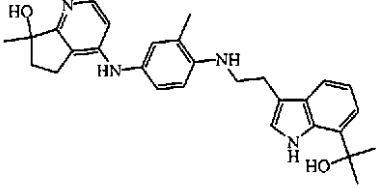
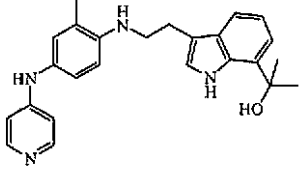
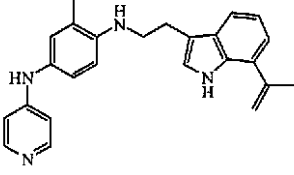
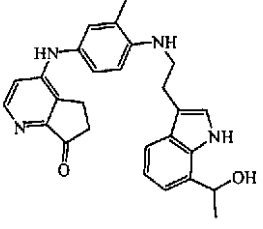
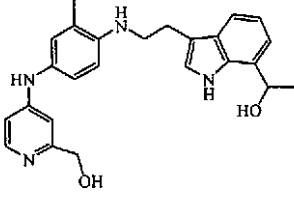
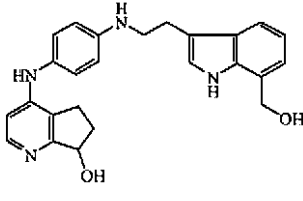
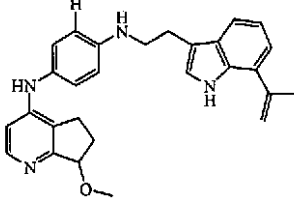
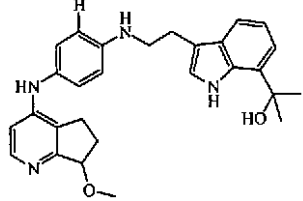
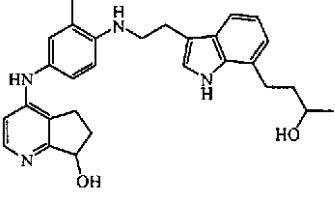
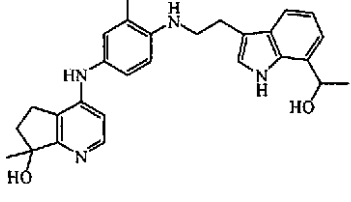
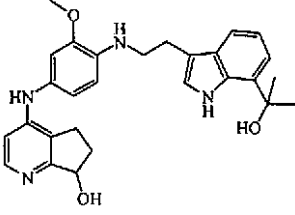
Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b) o, de ser posible, una de sus formas interesantes de realización tal como se indicó con anterioridad, en donde Z es un radical de la fórmula (z-2).

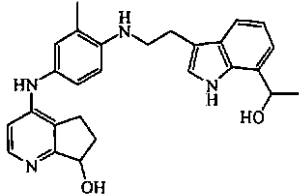
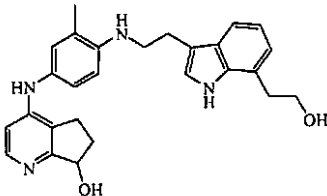
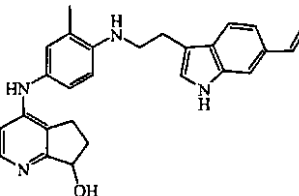
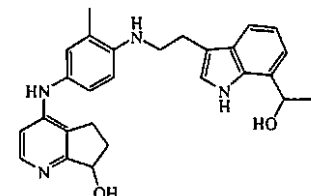
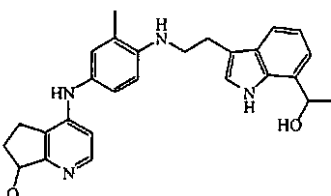
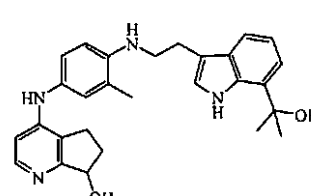
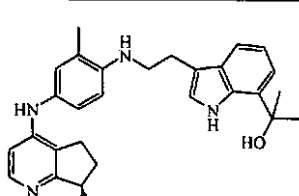
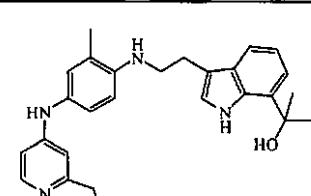
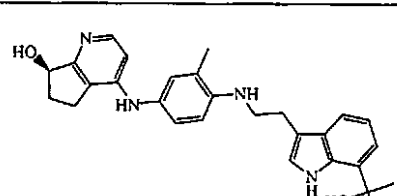
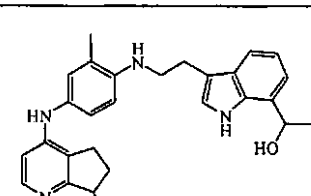
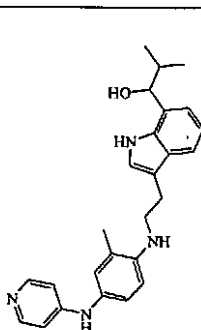
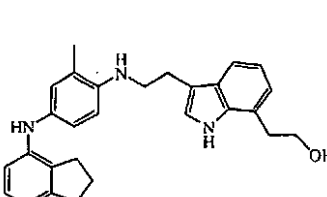
- 5 Todas las posibles combinaciones de las interesantes formas de realización antes indicadas se consideran comprendidas dentro del alcance de esta invención.

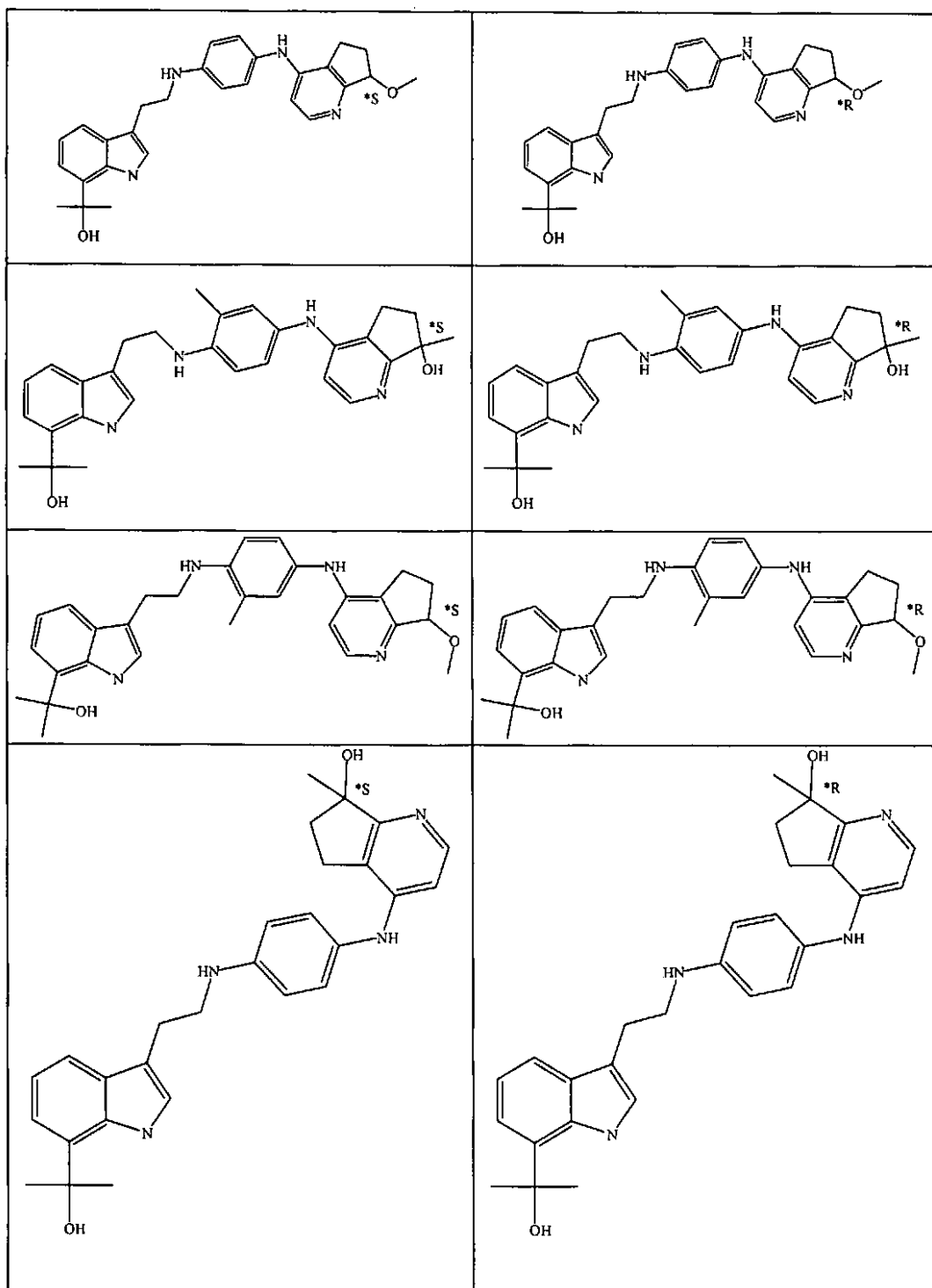
Una forma de realización interesante de la presente invención son aquellos compuestos de la fórmula (I), (I-a) o (I-b), en donde R^1 es $-\text{CH}_2\text{-OH}$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-OH}$,
 10 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-OH}$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$, $-\text{CH}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)\text{-OH}$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHOH-CH}_3$, $-\text{CH=CH}_2$ o $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$; R^2 es hidrógeno o metilo; R^3 es hidrógeno o $-\text{CH}_2\text{-OH}$; R^4 es hidroxilo o metiloxi; R^5 es hidrógeno o metilo o R^4 y R^5 se toman juntos para formar oxo.

- Con preferencia, los compuestos de las interesantes formas de realización
 15 antes indicadas son estereoquímicamente puros.

Los compuestos preferidos de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en



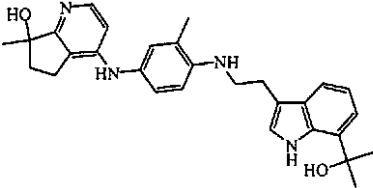
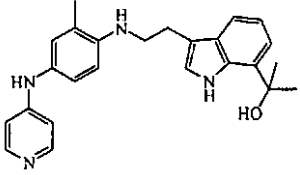
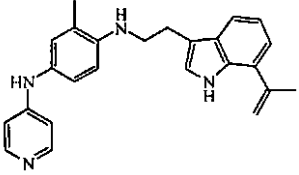
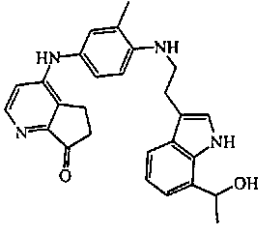
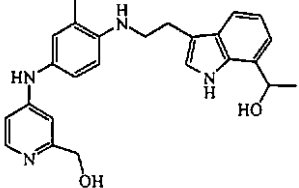
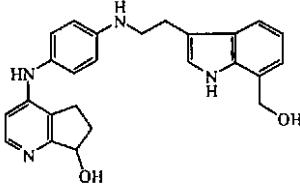
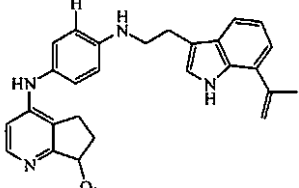
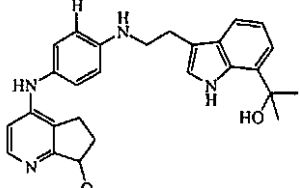
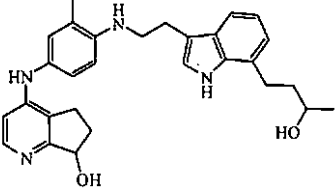
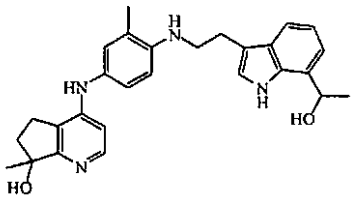
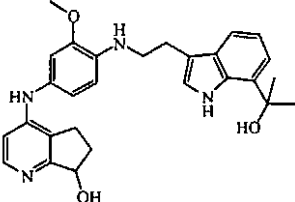
incluyendo cualquiera de sus formas estereoquímicamente isoméricas;

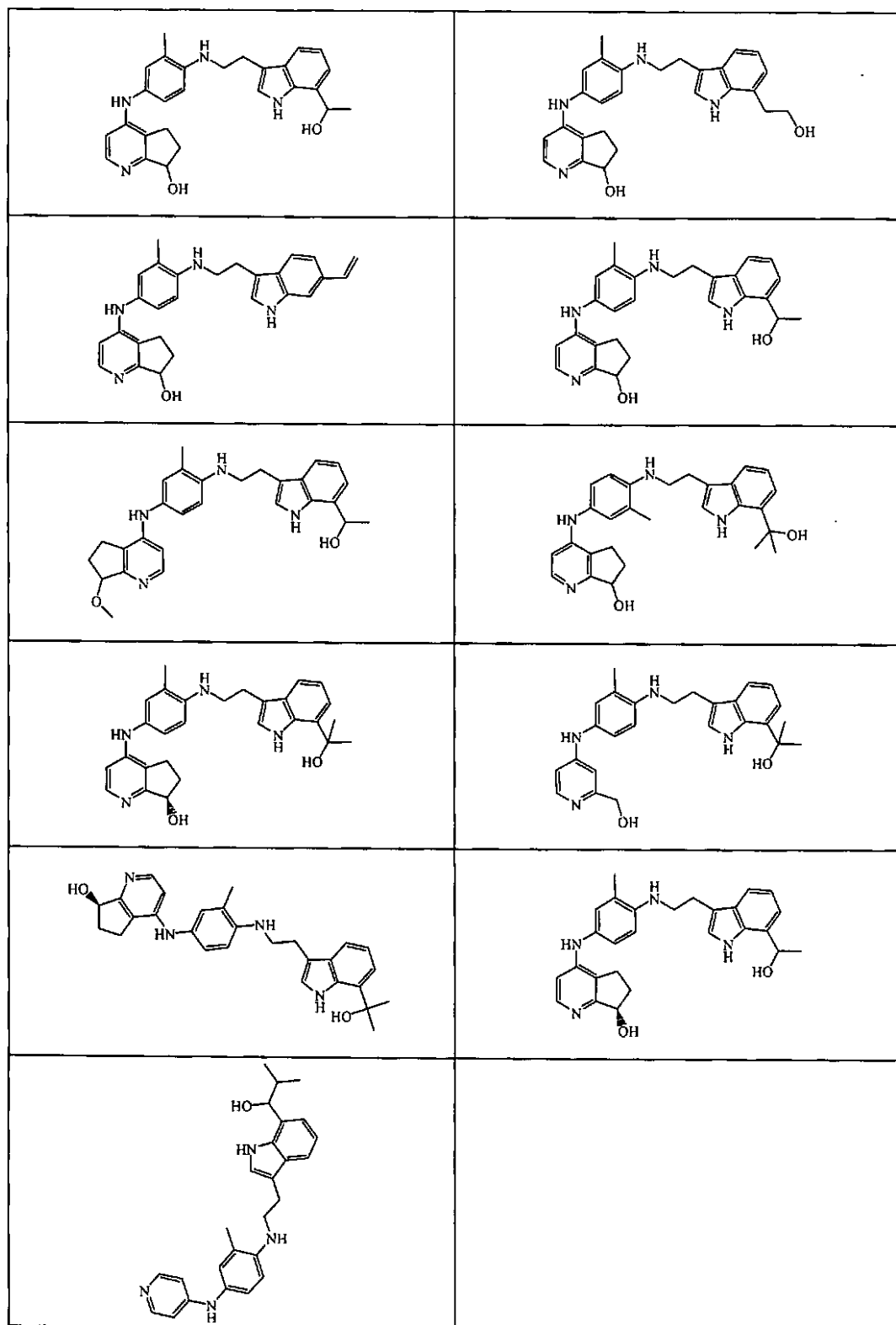
una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

(* significa estereoquímica relativa)

{JLLCCO: 298880.DOC v.1}

Los compuestos preferidos de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en

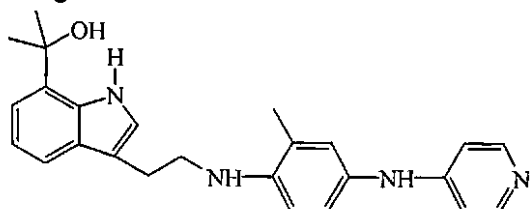
	
	
	
	
	
	



incluyendo cualquiera de sus formas estereoquímicamente isoméricas;

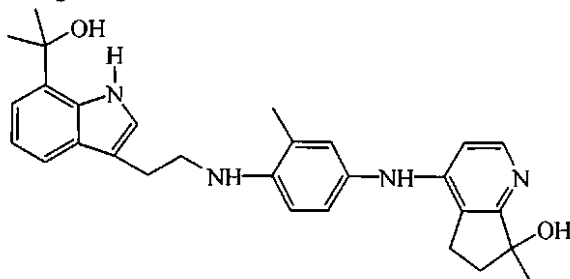
una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

Un compuesto preferido de la presente invención es el compuesto que tiene la siguiente fórmula



5 una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

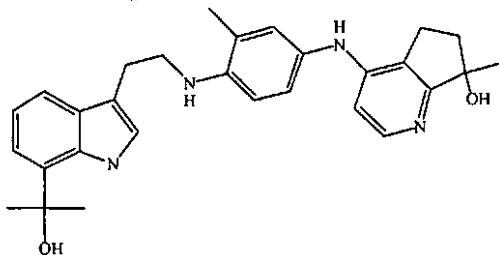
Un compuesto preferido de la presente invención es el compuesto que tiene la siguiente fórmula



incluyendo cualquiera de sus formas estereoquímicamente isoméricas;

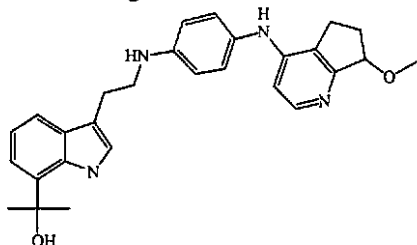
10 una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

Un compuesto preferido de la presente invención es el enantiómero que tiene la siguiente fórmula



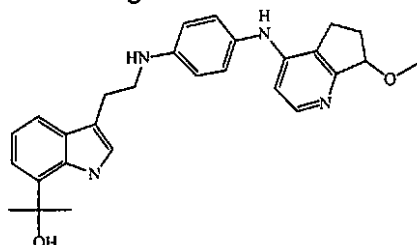
y que tiene una rotación levorrotatoria medida con luz con la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20 °C y una longitud de paso celular de 1 dm en cloroformo en una concentración de 8,59 mg/ml; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

Un compuesto preferido de la presente invención es el enantiómero que tiene la siguiente fórmula



5 y que tiene una rotación dextrorrotatoria medida con luz con la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20 °C y una longitud de paso celular de 1 dm en metanol en una concentración de 10,33 mg/ml; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

Un compuesto preferido de la presente invención es el enantiómero que tiene la siguiente fórmula

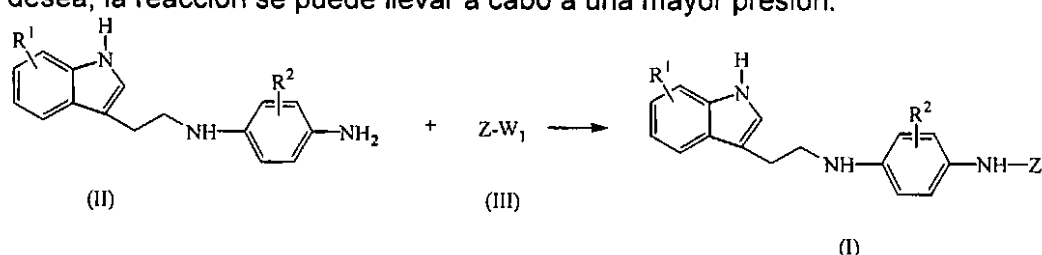


10 y que tiene una rotación levorrotatoria medida con luz con la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20 °C y una longitud de paso celular de 1 dm en metanol en una concentración de 10,74 mg/ml; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

15 Los compuestos de la fórmula (I), sus sales farmacéuticamente aceptables y sus formas estereoquímicamente isoméricas se pueden preparar de una manera convencional. Los materiales de partida y algunos de los intermediarios son compuestos conocidos y están disponibles en comercios o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos de reacción convencionales tal como se conocen en
20 general en la técnica. También se hace referencia al respecto a los métodos de síntesis descritos en el documento WO 2006/032631.

Se describirá una cantidad de tales métodos de preparación en la presente más adelante, con mayor detalle. Se describen en los ejemplos otros métodos para obtener los compuestos finales de la fórmula (I).

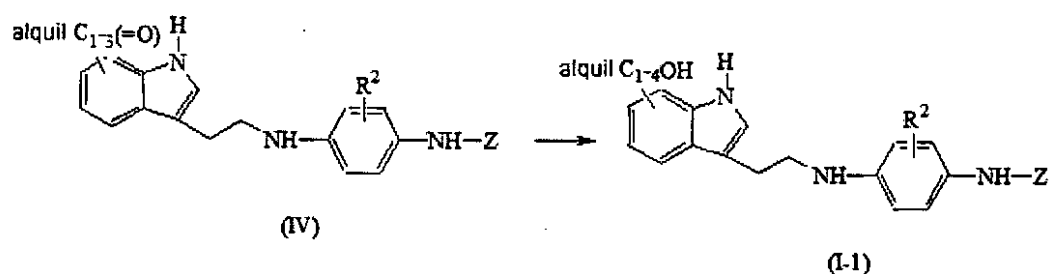
En general, los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (II) con un intermediario de la fórmula (III), en donde W_1 es un grupo saliente apropiado tales como, por ejemplo, halo, por ejemplo, fluoro, cloro, bromo o yodo o un radical sulfonilo tales como metilsulfonilo, 4-metilfenilsulfonilo, y similares. La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, etanol, 2-metoxi-etanol, propanol, butanol, y similares; un éter, por ejemplo, 1, 4-dioxano, con preferencia en presencia de un ácido apropiado, tales como, por ejemplo, HCl, 1,1'-oxibispropano, y similares; una cetona, por ejemplo, 4-metil-2-pentanona; o N,N-dimetilformamida, nitrobenzono, acetonitrilo, y similares. La adición de una base apropiada tales como, por ejemplo, un carbonato o hidrógeno-carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo o una base orgánica, por ejemplo, N,N-diisopropiletilamina, trietilamina, carbonato de sodio o carbonato de potasio, se puede utilizar para extraer el ácido que se libera durante el curso de la reacción. Se puede añadir una pequeña cantidad de un yoduro metálico apropiado, por ejemplo, yoduro de sodio o de potasio para promover la reacción. La agitación puede mejorar la velocidad de la reacción. La reacción se puede llevar a cabo, de manera conveniente, a una temperatura que va de la temperatura ambiente a la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción y, si se desea, la reacción se puede llevar a cabo a una mayor presión.



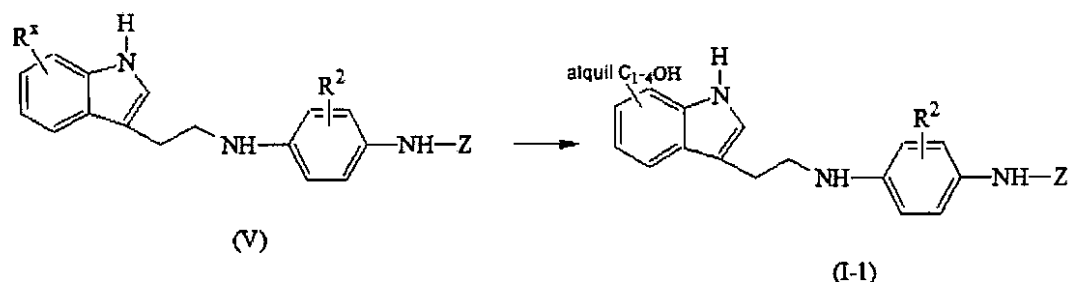
En la reacción anterior, los intermediarios de la fórmula (II), en donde R^1 es $-C(OH)(CH_3)_2$, pueden dar como resultado el correspondiente compuesto final de la fórmula (I), en donde R^1 es $-C(CH_3)=CH_2$.

La reacción anterior de un intermediario de la fórmula (III) con un
 5 intermediario de la fórmula (II) también se puede llevar a cabo en presencia de un catalizador apropiado, tales como, por ejemplo, $Pd(dba)_2$ (bis[(1,2,4,5- η)-1,5-difenil-1,4-pentadien-3-ona]-paladio), un ligando apropiado, tales como, por ejemplo, BINAP (2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo), una base apropiada, tales como, por ejemplo, ter-butóxido de sodio y un solvente apropiado tal como, por
 10 ejemplo, tolueno.

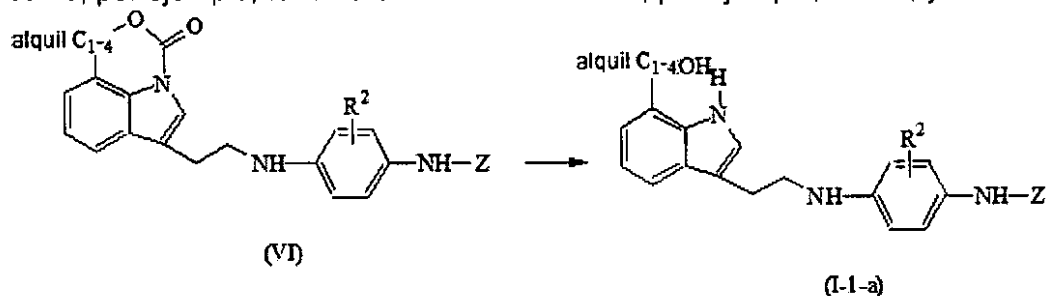
Los compuestos de la fórmula (I), en donde R^1 representa hidroxialquilo C_{1-4} , donde dichos compuestos están representados por la fórmula (I-1), también se pueden preparar reduciendo el correspondiente derivado de carbonilo de la fórmula (IV) en presencia de un agente de reducción apropiado, tales como, por
 15 ejemplo, $NaBH_4$ y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, y similares.



Los compuestos de la fórmula (I-1) también se pueden preparar reduciendo el correspondiente derivado de éster de la fórmula (V), en donde R^x representa -alquil C_{1-3} -C(=O)Oalquilo C_{1-4} , en presencia de un agente de reducción apropiado, tales como, por ejemplo, $LiAlH_4$ y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahydrofurano.



Los compuestos de la fórmula (I-1), en donde el R^1 representa hidroxialquilo C_{1-4} y dicho hidroxialquilo C_{1-4} está ubicado en la posición 7 del resto indol, estando dichos compuestos representados por la fórmula (I-1-a), también se pueden preparar por hidrólisis de un intermediario de la fórmula (VI) con una base apropiada, tales como, por ejemplo, hidróxido de sodio y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahydrofurano o un alcohol, por ejemplo, etanol, y similares.



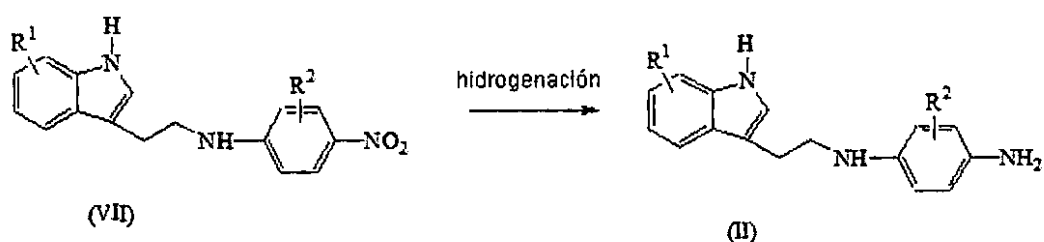
Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden convertir en otro por medio de reacciones conocidas en la técnica o transformaciones de grupos funcionales.

Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden convertir en una sal por adición de ácidos farmacéuticamente aceptable por reacción con un ácido apropiado, tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, en un solvente apropiado tal

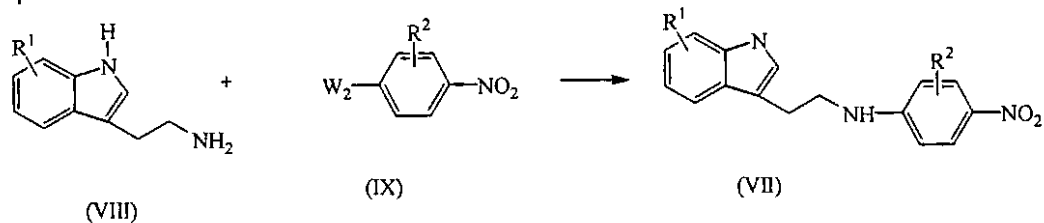
como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, 2-propanol, éter dietílico, éter diisopropílico.

Algunos de los intermediarios y materiales de partida son compuestos conocidos y pueden ser asequibles en comercios o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica.

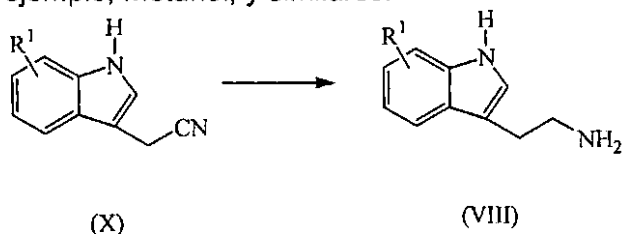
En general, los intermediarios de la fórmula (II) se pueden preparar hidrogenando un intermediario de la fórmula (VII) en presencia de un catalizador metálico apropiado, tales como, por ejemplo, níquel Raney, en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol o etanol, y similares; o platino sobre carbón, en presencia de un veneno catalizador apropiado, tal como una solución de tiofeno y pentóxido de vanadio, en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano.



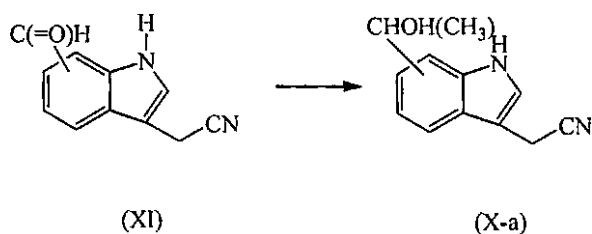
Los intermediarios de la fórmula (VII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (VIII) con un intermediario de la fórmula (IX), en donde W_2 representa un grupo saliente apropiado, tales como, por ejemplo, un átomo de halo, por ejemplo, cloro, bromo, fluoro, y similares, en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, N,N-dimetilsulfóxido. La adición de una base apropiada tales como, por ejemplo, un carbonato o hidrógeno-carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo o una base orgánica, por ejemplo, N,N-diisopropiletilamina, trietilamina, carbonato de sodio, hidrógeno-carbonato de sodio o carbonato de potasio, se puede utilizar para extraer el ácido que se libera durante el curso de la reacción.



Los intermediarios de la fórmula (VIII) se pueden preparar a partir del correspondiente intermediario de la fórmula (X) en presencia de níquel Raney y NH_3 en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, y similares.

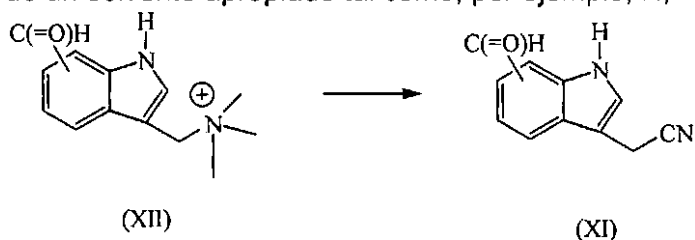


Los intermediarios de la fórmula (X), en donde R^1 representa hidroxialquilo C_{1-4} , por ejemplo, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_3)$, estando representados dichos intermediarios por la fórmula (X-a), se pueden preparar a partir de un intermediario de la fórmula (XI) por reacción con CH_3MgCl en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano.

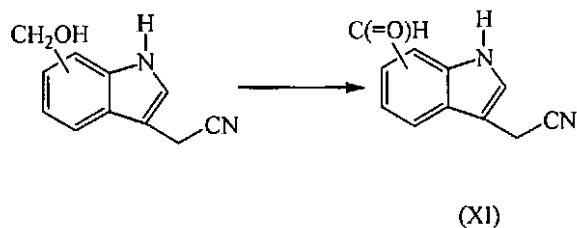


Se puede usar la misma reacción para preparar otras alternativas de hidroxialquilo C_{1-4} . Por ejemplo, los intermediarios, en donde R^1 representa $-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$, se pueden preparar a partir del correspondiente intermediario con $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$.

Los intermediarios de la fórmula (XI) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XII) con cianuro de sodio en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, N,N-dimetilformamida.

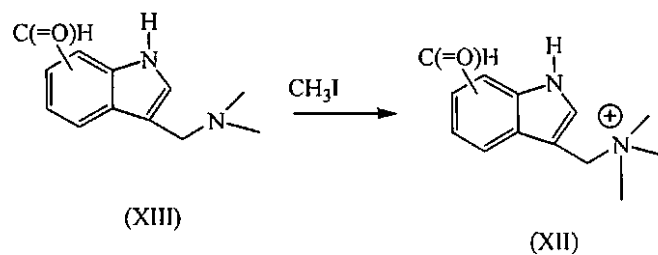


De modo alternativo, los intermediarios de la fórmula (XI) también se pueden preparar por oxidación a partir del correspondiente análogo de hidroxilo en presencia de peryodinano de Dess-Martin y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, diclorometano.



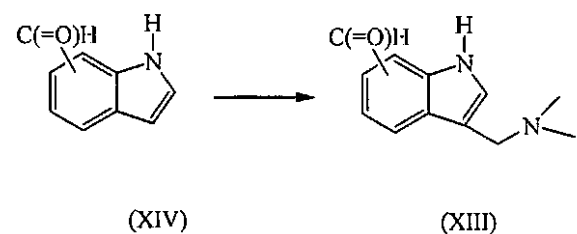
Los intermediarios de la fórmula (XII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XIII) con CH_3I en presencia de un solvente apropiado tal como un alcohol, por ejemplo, etanol.

5



Los intermediarios de la fórmula (XIII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XIV) con sal de Eschenmosser en presencia de ácido acético.

10

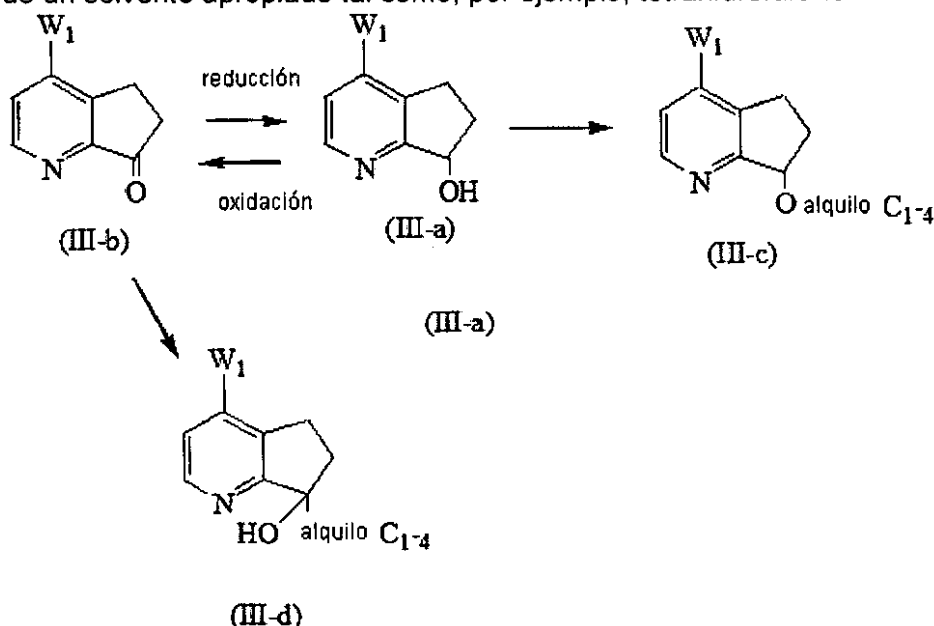


Los intermediarios de la fórmula (XIV) se pueden preparar oxidando el correspondiente análogo de hidroxilo en presencia de un agente de oxidación apropiado tal como, por ejemplo, MnO_2 , en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, diclorometano.

15

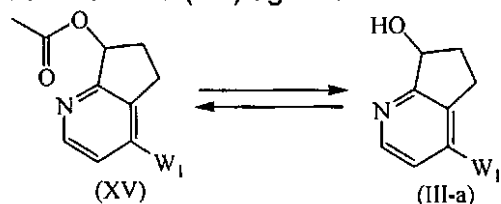
Los intermediarios de la fórmula (III), en donde Z es un radical de la fórmula (z-2) y R^4 es hidroxilo, estando representados dichos intermediarios por la fórmula (III-a), se pueden preparar reduciendo un intermediario de la fórmula (III-b) con un agente de reducción apropiado tal como, por ejemplo, NaBH_4 , en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol.

Los intermediarios de la fórmula (III-a) se pueden convertir en un intermediario de la fórmula (III-c) por reacción con yoduro de alquilo C_{1-4} , en presencia de una base apropiada tal como hidruro de sodio y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano. Los intermediarios de la fórmula (III-b) se pueden preparar por oxidación de un intermediario de la fórmula (III-a) por reacción con un agente de oxidación apropiado, tales como, por ejemplo, MnO_2 , en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, diclorometano. Los intermediarios de la fórmula (III-b) se pueden convertir en un intermediario de la fórmula (III-d) por reacción con alquil $\text{C}_{1-4}\text{-MgCl}$ en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano.



Los intermediarios de la fórmula (III-a) también se pueden preparar agitando el intermediario de la fórmula (XV) en una mezcla de metanol/ NH_3 . Si se

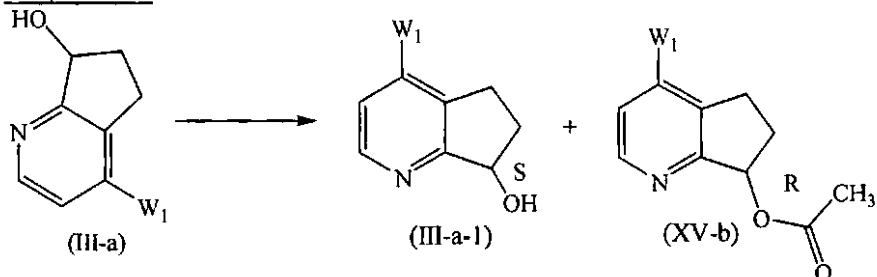
desea, el intermediario de la fórmula (III-a) se puede convertir en el intermediario de la fórmula (XV) agitando en una mezcla de anhídrido acético y piridina.



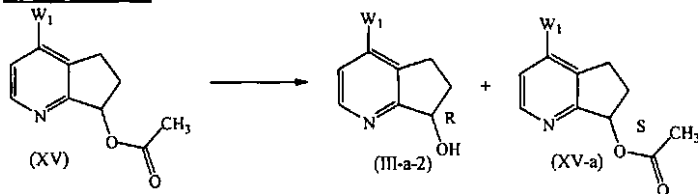
El enantiómero S del intermediario (III-a), mencionado en la presente como
 5 el intermediario de la fórmula (III-a-1) y el enantiómero R del intermediario de la fórmula (XV), mencionado en la presente como el intermediario de la fórmula (XV-b), se pueden preparar añadiendo Lipase Candida Antartica B a una mezcla racémica del intermediario de la fórmula (III-a) en un solvente apropiado tal como éster etenílico de ácido acético (ver el esquema 1). Si se desea, el intermediario
 10 de la fórmula (XV-b) se puede convertir en el enantiómero R del intermediario (III-a), mencionado en la presente como intermediario de la fórmula (III-a-2), por reacción en MeOH/NH₃.

A partir de la mezcla racémica, este método da como resultado la conversión de uno de los enantiómeros en su acetato con ee>99% y 58% de
 15 rendimiento y el segundo enantiómero se aísla con ee>99% con un rendimiento del 42%.

La expresión exceso enantiomérico (ee) es bien conocido por el experto en la técnica de la stereoquímica. Para una mezcla de enantiómeros(+) y (-), con la composición dada como las fracciones molares o en peso de F(+) y F(-) (cuando
 20 $F(+) + F(-) = 1$), el exceso enantiomérico para F(*) se define como $F(+) - F(-)$ y el exceso enantiomérico en porcentaje como $100*[F(+) - F(-)]$.

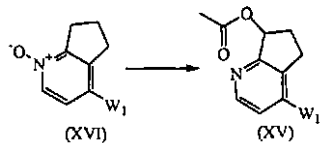
Esquema 1

De modo alternativo, el enantiómero R del intermediario (III-a), mencionado
 5 en la presente como el intermediario de la fórmula (III-a-2) y el enantiómero S del
 intermediario de la fórmula (XV), mencionado en la presente como el intermediario
 de la fórmula (XV-a), se pueden preparar añadiendo Lipase Candida Antartica B a
 una mezcla racémica del intermediario de la fórmula (XV) en agua (ver el
 esquema 2). Si se desea, el intermediario (XV-a) se puede convertir en el
 10 intermediario (III-a-1) por reacción en $MeOH/NH_3$.

Esquema 2

De modo alternativo, el intermediario de la fórmula (III-a) también se puede
 15 separar en sus enantiómeros por cromatografía quiral en columna.

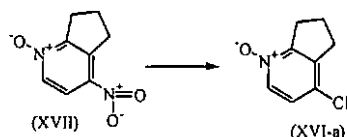
Los intermediarios de la fórmula (XV) se pueden preparar agitando el
 intermediario de la fórmula (XVI) en anhídrido acético.



Los intermediarios de la fórmula (XVI), en donde W_1 es cloro, mencionado
 20 en la presente como el intermediario de la fórmula (XVI-a), se pueden preparar

67

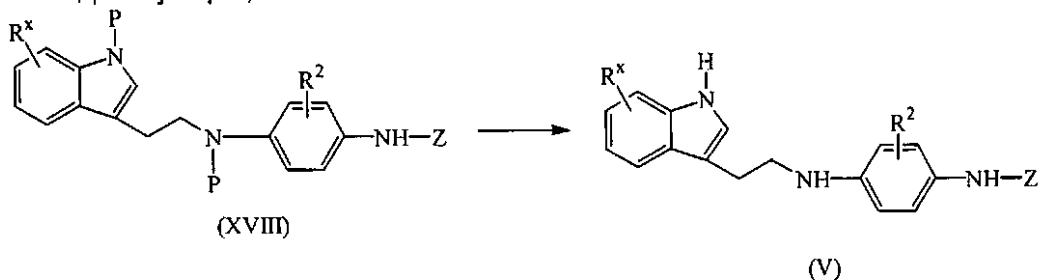
añadiendo cloruro de benciltriethylamonio y cloruro de sodio a una solución del intermediario de la fórmula (XVII) en acetonitrilo, seguido de la adición de ácido clorhídrico concentrado.



- 5 Los intermediarios de la fórmula (XVII) se pueden preparar añadiendo ácido nítrico fumante a ácido sulfúrico seguido de la adición en porciones de 1-óxido de 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridina.

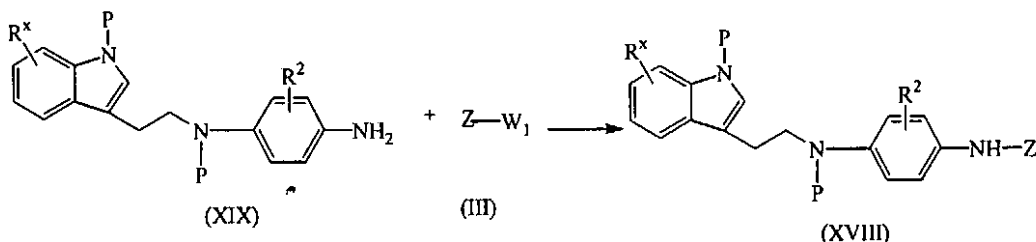
Los intermediarios de la fórmula (IV) se pueden preparar de acuerdo con los protocolos de reacción anteriores para los intermediarios de la fórmula (II).

- 10 Los intermediarios de la fórmula (V) se pueden preparar desprotegiendo un intermediario de la fórmula (XVIII), en donde P representa un grupo protector apropiado tal como, por ejemplo, $-C(=O)-O-C(CH_3)_3$, en presencia de un ácido apropiado, tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, acetonitrilo.



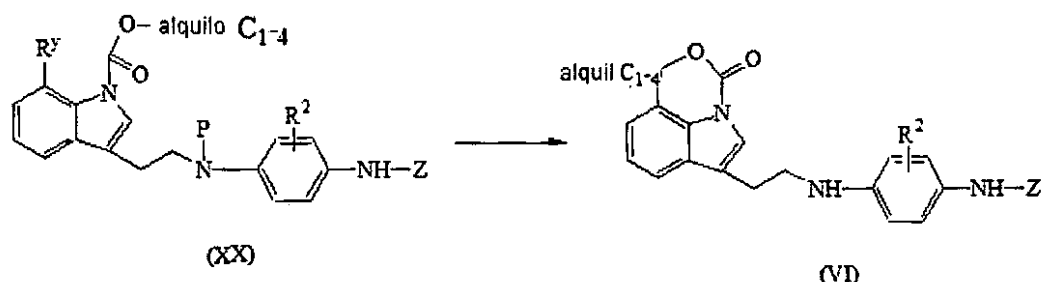
- 15 Los intermediarios de la fórmula (XVIII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XIX) con un intermediario de la fórmula (III) en presencia de un solvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, etanol, 2-metoxi-etanol, propanol, isopropanolbutanol, y similares; un éter, por ejemplo, 1,4-dioxano con preferencia en presencia de un ácido apropiado tales como, por ejemplo, HCl, 1,1'-oxibispropano, y similares; una cetona, por ejemplo, 4-metil-2-pentanona; o N,N-
- 20

2

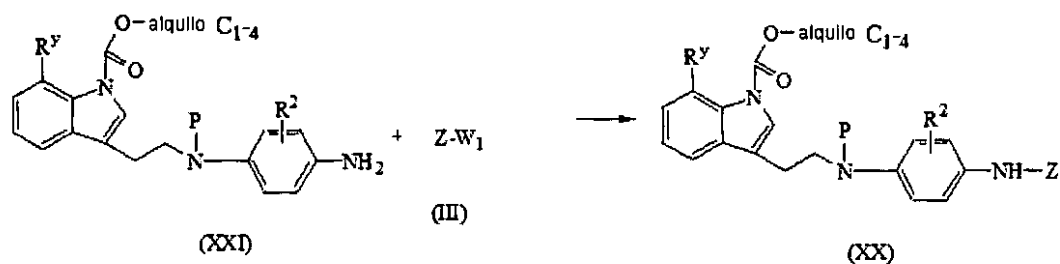


15

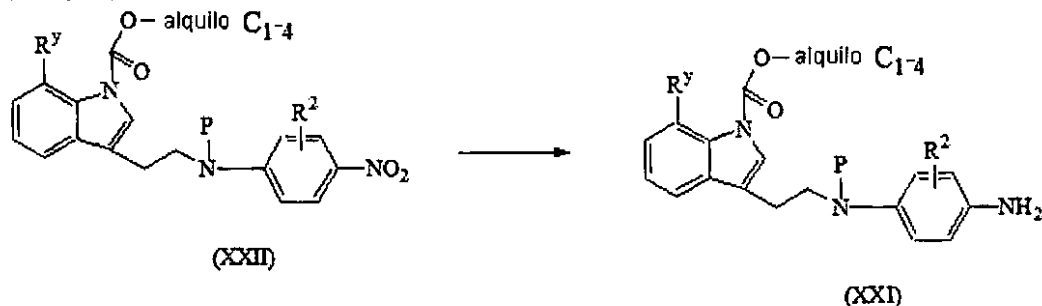
20



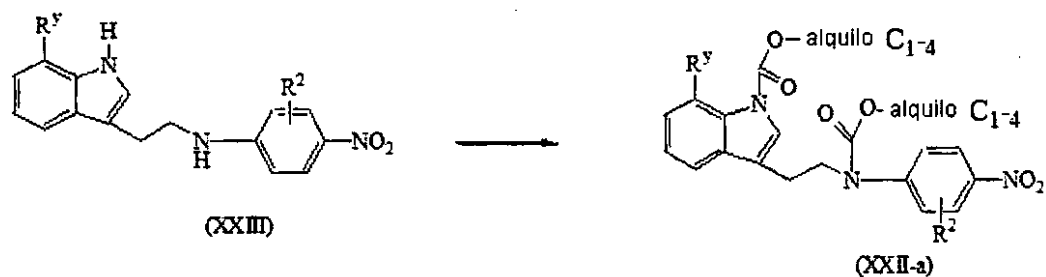
Los intermediarios de la fórmula (XX) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XXI) con un intermediario de la fórmula (III) en presencia de un solvente inerte a la reacción tales como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, etanol, 2-metoxi-etanol, propanol, isopropanolbutanol, y similares; un éter, por ejemplo, 1,4-dioxano con preferencia en presencia de un ácido apropiado tales como, por ejemplo, HCl, 1,1'-oxibispropano, y similares; una cetona, por ejemplo, 4-metil-2-pentanona; o N,N-dimetilformamida, nitrobenceno, acetonitrilo, y similares. La adición de una base apropiada tales como, por ejemplo, un carbonato o hidrógeno-carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo o una base orgánica, por ejemplo, N,N-diisopropiletilamina, trietilamina, carbonato de sodio o carbonato de potasio, se puede utilizar para extraer el ácido que se libera durante el curso de la reacción. Se puede añadir una pequeña cantidad de un yoduro metálico apropiado, por ejemplo, yoduro de sodio o de potasio, para promover la reacción. La agitación puede mejorar la velocidad de la reacción. La reacción se puede llevar a cabo, de manera conveniente, a una temperatura que va de la temperatura ambiente a la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción y, si se desea, la reacción se puede llevar a cabo a una mayor presión.



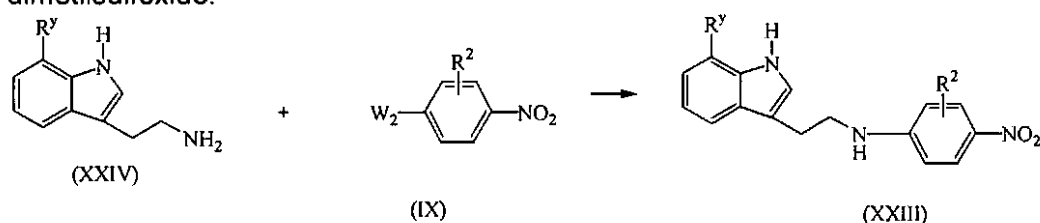
Los intermediarios de la fórmula (XXI) se pueden preparar a partir del correspondiente intermediario nitro de la fórmula (XXII) por hidrogenación en presencia de un catalizador apropiado, tales como, por ejemplo, níquel Raney y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, y similares.



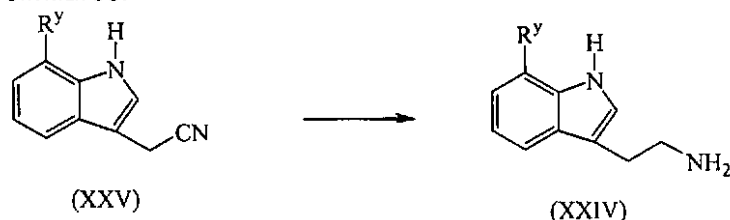
Los intermediarios de la fórmula (XXII), en donde P representa -C(=O)-O-alkilo C₁₋₄, estando representado dicho intermediario por la fórmula (XXII-a), se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XXIII) con dicarbonato de di-ter-butilo en presencia de una base apropiada tal como, por ejemplo, trietilamina y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, 4-(dimetil)aminopiridina.



Los intermediarios de la fórmula (XXIII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XXIV) con un intermediario de la fórmula (IX) en presencia de una base apropiada, tales como, por ejemplo, bicarbonato de sodio y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, N,N-dimetilsulfóxido.



Los intermediarios de la fórmula (XXIV) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XXV) con NH_3 en presencia de un catalizador apropiado, tales como, por ejemplo, níquel Raney, en presencia de un solvente apropiado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo, metanol, y similares.



Los intermediarios de la fórmula (XXV) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (XXVI) con cloruro de ter-butildimetilsililo en presencia de una base apropiada tal como, por ejemplo, imidazol y un solvente apropiado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano.



Los intermediarios de la fórmula (XXVI) se pueden preparar tal como se describió con anterioridad para los intermediarios de la fórmula (XI).

- Los compuestos de la fórmula (I) y algunos de los intermediarios de la presente invención pueden contener cualquier átomo de carbono asimétrico. Las
- 5 formas puras estereoquímicamente isoméricas de dichos compuestos y dichos intermediarios se pueden obtener por la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los diastereoisómeros se pueden separar por métodos físicos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatográficas, por ejemplo distribución de contracorriente, cromatografía líquida y métodos similares.
- 10 Los enantiómeros se pueden obtener a partir de mezclas racémicas al convertir primero dichas mezclas racémicas con agentes de resolución adecuados tales como, por ejemplo, ácidos quirales, a mezclas de sales o compuestos diastereoméricos; luego separar físicamente dichas mezclas de sales o compuestos diastereoméricos, por ejemplo, por técnicas de cristalización
- 15 selectiva, cromatografía líquida supercrítica o cromatográficas, por ejemplo métodos de cromatografía líquida y similares; y finalmente convertir dichas sales o compuestos diastereoméricos separados en los correspondientes enantiómeros. Las formas puras estereoquímicamente isoméricas también se pueden obtener a partir de las formas puras estereoquímicamente isoméricas de los intermediarios y
- 20 materiales iniciales adecuados, siempre que las reacciones que intervienen ocurran en forma estereoespecífica.

- Los compuestos de la fórmula (I), incluso cualquiera de sus formas estereoquímicamente isoméricas, sus sales farmacéuticamente aceptables o los solvatos correspondientes tienen valiosas propiedades farmacológicas por las
- 25 cuales incrementan la expresión de p53, muestran poderosa actividad antiproliferativa, muestran poderosa actividad antitumoral.

Tal como se indicó con anterioridad, los compuestos de la invención incrementan la expresión de p53 en el ensayo descrito en C.1. Este incremento puede ser causado, sin limitaciones, por uno o más de los siguientes mecanismos de acción:

- 5 - interacciones con objetivos corriente arriba o corriente abajo, por ejemplo cinasas, o actividades de enzima incluidas en la ubiquitinación o la modificación SUMO,
- estabilización directa o indirecta de la proteína p53, por ejemplo al mantener su forma funcional, o al prevenir el plegamiento equivocado,
- 10 - mejorar la expresión de p53 o la expresión de miembros de la familia de p53, por ejemplo p63 y p73,
- incrementar la actividad de p53, por ejemplo (sin limitaciones), mejorar su actividad de transcripción y/o
- incrementar la expresión de genes y proteínas de la vía de señales de p53, por
- 15 ejemplo (sin limitaciones) p21waf1, cip1, MIC-1 (GDF-15), PIG-3, Bax, Puma, Noxa, y ATF-3.

En consecuencia, la presente invención describe los compuestos de la fórmula (I) para su uso como medicina, en particular para el tratamiento de cáncer o enfermedades relacionadas, para inhibir el crecimiento tumoral, para

20 incrementar la expresión de p53.

Además, la invención también se ocupa del uso de un compuesto para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por la disminución de la expresión de p53, en particular para el tratamiento de cáncer, en donde dicho compuesto es un compuesto de la fórmula (I).

25 El término "tratar" o "tratamiento" tal como se usa en la presente cubre cualquier tratamiento de una enfermedad y/o condición patológica en un animal, particularmente un humano, e incluye: (i) impedir que una enfermedad y/o

condición patológica ocurra en un sujeto que pueda estar predispuesto a la enfermedad y/o condición patológica pero al que no se le ha diagnosticado aún;
(ii) inhibir la enfermedad y/o condición patológica, es decir, detener su desarrollo;
(iii) aliviar la enfermedad y/o condición patológica, es decir, causar la regresión de
5 la enfermedad y/o condición patológica.

Con el término "trastorno mediado por la disminución de la expresión de p53" se entiende cualquier condición no deseada o en detrimento que pueda ser inhibida, cuyo desarrollo pueda ser detenido, que pueda ser aliviada o cuya regresión pueda ser causada por apoptosis, inducción de muerte celular, o
10 regulación del ciclo celular.

La presente invención también provee un método para tratar un trastorno mediado por una disminución de la expresión de p53, en particular para tratar cáncer, al administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, a un sujeto, por ejemplo un mamífero (y más particularmente un
15 humano) que necesite dicho tratamiento.

Los compuestos de la invención pueden tener efectos antiproliferativos sobre las células tumorales, incluso si dichas células carecen de p53 funcional. Más en particular, los compuestos de la invención pueden tener efectos antiproliferativos sobre tumores con p53 de tipo silvestre o mutante y/o sobre
20 tumores con expresión excesiva de MDM2. Los compuestos pueden afectar la angiogénesis, la migración, la invasión o la metástasis de las células de tumor.

En consecuencia, la presente invención también provee un método para inhibir el crecimiento tumoral al administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención a un sujeto, por ejemplo un mamífero (y más
25 particularmente un humano) que necesite de dicho tratamiento.

Los ejemplos de tumores que incluyen enfermedades malignas de adultos y pediátricos, los cuales pueden ser inhibidos por los compuestos de la presente

invención incluyen, sin limitaciones, cáncer de pulmón incluso cáncer de pulmón
 de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas (por ejemplo
 adenocarcinoma), cánceres de páncreas, cánceres de colon (por ejemplo
 carcinomas colorrectales tales como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y
 5 adenoma de colon), cáncer de esófago, carcinoma pavimentoso oral, carcinoma
 de lengua, carcinoma gástrico, cáncer de hígado, cáncer nasofaríngeo, tumores
 hematopoyéticos de linaje linfoide (por ejemplo leucemia linfocítica aguda, linfoma
 de células B, linfoma de Burkitt), linfoma no Hodgkin (por ejemplo linfoma de
 células del manto), enfermedad de Hodgkin, leucemias mieloides (por ejemplo,
 10 leucemia mielógena aguda (AML) o leucemia mielógena crónica (CML)), leucemia
 linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica (CLL), cáncer de folículo tiroideo,
 síndrome mielodisplásico (MDS), tumores de origen mesenquimático, sarcomas
 de tejidos blandos, liposarcomas, sarcomas de estroma gastrointestinal, tumores
 malignos de la vaina nerviosa periférica (MPNST), sarcomas de Ewing,
 15 leiomiosarcomas, condrosarcomas mesenquimáticos, limfosarcomas,
 fibrosarcomas, rhabdomyosarcomas, melanomas, teratocarcinomas,
 neuroblastomas, tumores cerebrales, meduloblastoma, gliomas, tumor benigno de
 la piel (por ejemplo queratoacantomas), carcinoma de mama (por ejemplo cáncer
 de mama avanzado), carcinoma renal, nefroblastoma, carcinoma de ovario,
 20 carcinoma cervical, carcinoma endometrial, carcinoma de vejiga, cáncer de
 próstata que incluye la enfermedad avanzada y cáncer de próstata refractario a
 hormonas, cánceres testiculares, osteosarcoma, cáncer de cabeza y cuello,
 carcinoma epidérmico, mieloma múltiple (por ejemplo mieloma múltiple
 refractario), mesotelioma. Los cánceres particulares que pueden ser tratados con
 25 los compuestos de la presente invención son cáncer de mama, cáncer colorrectal,
 cáncer de pulmón de células pequeñas, leucemia mielógena aguda (AML).

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar para el tratamiento y la prevención de condiciones inflamatorias.

En consecuencia, la presente invención también provee un método para el tratamiento y la prevención de condiciones inflamatorias al administrar una
5 cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, a un sujeto, por ejemplo un mamífero (y más particularmente un humano) en necesidad de dicho tratamiento.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar para el tratamiento de enfermedades y condiciones autoinmunes. Por el término
10 "enfermedades autoinmunes" se entiende cualquier enfermedad en la cual el sistema inmune de un animal reacciona en forma adversa a un autoantígeno. Por el término "autoantígeno" se entiende cualquier antígeno que normalmente se encuentra en el cuerpo del animal. Las enfermedades autoinmunes representativas incluyen sin limitaciones: tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de
15 Grave, esclerosis múltiple, anemia perniciosa, enfermedad de Addison, diabetes mellitas insulínica, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (LES o lupus), dermatomiositis, enfermedad de Crohn, granulomatosis de Wegener, enfermedad antimembrana basal glomerular, síndrome antifosfolipídico, dermatitis herpetiforme, encefalomielitis alérgica, glomerulonefritis, glomerulonefritis
20 membranosa, síndrome de Goodpasture, síndrome de Lambert-Eaton, síndrome miasténico, miastenia grave, pénfigo ampollar, poliendocrinopatías, enfermedad de Reiter, y síndrome hombre rígido.

En consecuencia, la presente invención también provee un método para el tratamiento de enfermedades y condiciones autoinmunes al administrar una
25 cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, a un sujeto, por ejemplo un mamífero (y más particularmente un humano) que necesite dicho tratamiento.

Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades asociadas con proteínas de conformación inestable o mal plegadas.

Los ejemplos de enfermedades asociadas con proteínas de conformación inestable o mal plegadas sin limitaciones: fibrosis quística (CFTR), síndrome de Marfan (fibrillina), esclerosis lateral amiotrófica (superoxidodismutasa), escorbuto (colágeno), enfermedad de orina de jarabe de arce (complejo de alfa-cetoacidodeshidrogenasa), osteogénesis imperfecta (tipo procolágeno pro-alfa), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (priones), enfermedad de Alzheimer (beta-amiloide), amiloidosis familiar (lisosomas), cataratas (cristalino), hipercolesterolemia familiar (receptor de LDL), deficiencia de α 1-antitripsina, enfermedad de Tay-Sachs (beta-hexosaminidasa), retinitis pigmentosa (rodopsina), y leprechaunismo (receptor de insulina).

En consecuencia, la presente invención también provee un método para el tratamiento de enfermedades asociadas con proteínas de conformación inestable o mal plegadas al administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, a un sujeto, por ejemplo un mamífero (y más particularmente un humano) que necesite dicho tratamiento.

En vista de sus propiedades farmacológicas útiles, los compuestos objeto se pueden formular en diversas formas farmacéuticas con fines de administración.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención, una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, como ingrediente activo se combina en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, en donde el portador puede adoptar una amplia variedad de formas según la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas de manera deseable están en una forma de dosificación unitaria adecuada, con preferencia, para la

administración oral, rectal, percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, al preparar las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos usuales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales
5 tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos.

Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso
10 obviamente se emplean portadores farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, los portadores usualmente comprenden agua estéril, al menos en gran medida, si bien se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo para favorecer la solubilidad. Se pueden preparar soluciones inyectables, por ejemplo, en las cuales el portador comprende solución salina, solución de glucosa o una
15 mezcla de solución salina y glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador opcionalmente comprende un agente mejorador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente
20 combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, en donde dichos aditivos no causan significativo efecto deletéreo a la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser de utilidad para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas maneras, por ejemplo, como parche transdérmico,
25 como mancha, como ungüento. Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas antes mencionadas en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. La forma de

dosificación unitaria tal como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en la presente se refiere a unidades físicamente divididas adecuadas como dosis unitarias, en donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Los ejemplos de dichas formas de dosificación unitaria son are comprimidos (incluso o comprimidos rasurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas de té, cucharadas y similares, y sus múltiples divididos correspondientes.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas antes mencionadas en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de las dosis. La forma de dosificación unitaria tal como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en la presente se refiere a unidades físicamente divididas adecuadas como dosis unitarias, en donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el portador farmacéutico requerido. Los ejemplos de dichas formas de dosificación unitaria son comprimidos (incluso comprimidos rasurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas de té, cucharadas y similares, y sus múltiples divididos correspondientes.

El compuesto de la invención es administrado en una cantidad suficiente para inducir la apoptosis, inducir la muerte celular, o regular el ciclo celular.

En consecuencia, el compuesto de la invención es administrado en una cantidad suficiente para incrementar la expresión de p53, o ejercer su actividad antitumoral.

Los expertos en la técnica pueden determinar con facilidad la cantidad efectiva a partir de los resultados de las pruebas presentados a continuación. En general se contempla que una cantidad terapéuticamente efectiva sería desde 0,005 mg/kg hasta 100 mg/kg de peso corporal, y en particular desde 0,005 mg/kg hasta 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser adecuado administrar la dosis requerida como dosis única, o dos, tres, cuatro o más subdosis a intervalos apropiados durante el día. Dichas subdosis se pueden formular como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen 0,5 a 500 mg, en particular 1 mg a 500 mg, más particularmente 10 mg a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Según el modo de administración, la composición farmacéutica con preferencia comprende desde 0.05 hasta 99 % en peso, con mayor preferencia desde 0,1 hasta 70 % en peso, con aún mayor preferencia desde 0,1 hasta 50 % en peso del compuesto de la presente invención, y desde 1 hasta 99,95 % en peso, con mayor preferencia desde 30 hasta 99,9 % en peso, con aún mayor preferencia desde 50 hasta 99,9 % en peso de un portador farmacéuticamente aceptable, en donde todos los porcentajes se basan en el peso total de la composición.

Como otro aspecto de la presente invención, se visualiza una combinación de un compuesto de la presente invención con otro agente anticáncer, especialmente para el uso como medicina, más específicamente en el tratamiento de cáncer o enfermedades relacionadas.

Para el tratamiento de las condiciones patológicas anteriores, los compuestos de la invención se pueden emplear ventajosamente en combinación con uno o más de otros agentes medicinales, más particularmente, con otros agentes anticáncer o coadyuvantes en la terapia del cáncer. Los ejemplos de

agentes anticáncer o coadyuvantes (agentes de apoyo en la terapia) incluyen sin limitaciones:

- compuestos de coordinación de platino, por ejemplo cisplatino opcionalmente combinado con amifostina, carboplatino u oxaliplatino;
- 5 - compuestos de taxano, por ejemplo paclitaxel, partículas de paclitaxel fijadas a proteínas (Abraxane™) o docetaxel;
- inhibidores de topoisomerasa I tales como compuestos de camptotecina por ejemplo irinotecano, SN-38, topotecano, topotecano hcl;
- 10 - inhibidores de topoisomerasa II tales como derivados de epipodofilotoxinas o podofilotoxina antitumorales por ejemplo etopósido, etopósido fosfato o tenipósido;
- alcaloides de la vinca antitumorales, por ejemplo vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados de nucleósidos antitumorales, por ejemplo 5-fluorouracilo, leucovorina, gemcitabina, gemcitabina hcl, capecitabina, cladribina, fludarabina, nelarabina;
- 15 - agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea, por ejemplo ciclofosfamida, clorambucilo, carmustina, tiotepa, melfalan (melfalan), lomustina, altretamina, busulfano, dacarbazina, estramustina, ifosfamida, opcionalmente en combinación con mesna, pipobromano, procarbazona, estreptozocina, telozolomida, uracilo;
- 20 - derivados de antraciclina antitumorales, por ejemplo daunorrubicina, doxorrubicina opcionalmente en combinación con dexrazoxano, doxil, idarrubicina, mitoxantrona, epirubicina, epirubicina hcl, valrubicina;
- 25 - moléculas dirigidas al receptor IGF-1, por ejemplo picropodofilina;
- derivados de tetracarcina, por ejemplo tetrocarcina A;
- glucocorticoides, por ejemplo prednisona;

- anticuerpos, por ejemplo trastuzumab (anticuerpo HER2), rituximab (anticuerpo CD20), gemtuzumab, gemtuzumab ozogamicina, cetuximab, pertuzumab, bevacizumab, alemtuzumab, eculizumab, ibritumomab tiuxetano, nofetumomab, panitumumab, tositumomab, CNTO 328;
- 5 - antagonistas de receptor de estrógeno o moduladores selectivos de receptor de estrógeno o inhibidores de la síntesis de estrógeno, por ejemplo tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, droloxifeno, faslodex, raloxifeno o letrozol;
- inhibidores de aromatasa tales como exemestano, anastrozol, letrozol, testolactona y vorozol;
- 10 - agentes de diferenciación tales como retinoides, vitamina D o ácido retinoico y agentes bloqueadores del metabolismo de ácido retinoico (RAMBA), por ejemplo acutano;
- inhibidores de ADN metiltransferasa por ejemplo azacitidina o decitabina;
- 15 - antifolatos por ejemplo premetrexed disodio;
- antibióticos, por ejemplo antinomina D, bleomicina, mitomicina C, dactinomina, carminomicina, daunomicina, levamisol, plicamicina, mitramicina;
- antimetabolitos, por ejemplo clofarabina, aminopterina, citosina arabinósido o metotrexato, azacitidina, citarabina, floxuridina, pentostatina, tioguanina;
- 20 - agentes inductores de apoptosis y agentes antiangiogénicos tales como inhibidores de Bcl-2, por ejemplo, YC 137, BH 312, ABT 737, gosipol, HA 14-1, TW 37 o ácido decanoico;
- agentes fijadores de tubulina por ejemplo combrestatina, colchicinas o nocodazol;
- 25 - inhibidores de cinasa (por ejemplo inhibidores de EGFR (receptor de factor de crecimiento epitelial), inhibidores de MTKI (inhibidores de cinasas

- multiobjetivo), inhibidores de mTOR) por ejemplo flavoperidol, imatinibmesilato, erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, lapatinib ditosilato, sorafenib, sunitinib, sunitinib maleato, temsirolimus;
- inhibidores de farnesiltransferasa por ejemplo tipifarnib;
 - 5 - inhibidores de histonadesacetilasa (HDAC), por ejemplo butirato de sodio, ácido suberoilanolidahidroxamida (SAHA), depsipéptido (FR 901228), NVP-LAQ824, R306465, JNJ-26481585, tricotatina A, vorinostat;
 - Inhibidores de la vía de ubiquitina-proteasoma por ejemplo PS-341, MLN .41 o bortezomib;
 - 10 - Yondelis;
 - inhibidores telomerasa, por ejemplo telomestatina;
 - inhibidores de metaloproteínasa de matriz, por ejemplo batimastat, marimastat, prinostat o metastat.
 - Interleuquinas recombinantes, por ejemplo aldesleuquina, denileuquina
 - 15 diftotox, interferón alfa 2a, interferón alfa 2b, peginterferón alfa 2b
 - inhibidores de MAPK
 - retinoides por ejemplo alitretinoína, bexaroteno, tretinoína
 - trióxido de arsénico
 - asparaginasa
 - 20 - esteroides, por ejemplo propionato de dromostanolona, acetato de megestrol, nandrolona (decanoato, fenpropionato), dexametasona
 - agonistas o antagonistas de hormona liberadora de gonadotropina, por ejemplo abarelix, acetato de goserelina, acetato de histrelina, acetato de leuprolida
 - 25 - talidomida, lenalidomida
 - mercaptopurina, mitotano, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, rasburicasa

- BH3 miméticos, por ejemplo ABT-737
- inhibidores de MEK, por ejemplo PD98059, AZD6244, CI-1040
- análogos de factores estimulantes de colonias, por ejemplo filgrastim, pegfilgrastim, sargramostim; eritropoyetina o sus análogos (por ejemplo
- 5 darbepoetina alfa); interleuquina 11; oprelvequina; zoledronato, ácido zoledrónico; fentanilo; bisfosfonato; palifermina.
- un inhibidor de una citocromo-P450-17alfa-hidroxilasa-17,20-liasa esferoidal (CYP17), por ejemplo abiraterona

Tal como se especificó con anterioridad, los compuestos de la presente
 10 invención también tienen aplicaciones terapéuticas al sensibilizar las células tumorales para radioterapia y quimioterapia.

En consecuencia, los compuestos de la presente invención se pueden usar como "radiosensibilizador" y/o "quimiosensibilizador" o se pueden administrar en combinación con otro "radiosensibilizador" y/o "quimiosensibilizador".

15 El término "radiosensibilizador", tal como se usa en la presente, es definido como una molécula, con preferencia una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente efectivas a fin de incrementar la sensibilidad de las células a la radiación ionizante y/o promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación ionizante.

20 El término "quimiosensibilizador", tal como se usa en la presente, es definido como una molécula, con preferencia una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente efectivas a fin de incrementar la sensibilidad de las células a la quimioterapia y/o promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con quimioterápicos.

25 Se han sugerido varios mecanismos para el modo de acción de los radiosensibilizadores en la bibliografía, incluso: radiosensibilizadores de células hipóxicas (por ejemplo, compuestos de 2-nitroimidazol, y compuestos de dióxido

de benzotriazina) que simulan el oxígeno o alternatively se comportan como agentes biorreductores en situación de hipoxia; los radiosensibilizadores de células no hipóxicas (por ejemplo, pirimidinas halogenadas) pueden ser análogos a las bases de ADN y con preferencia se incorporan en el ADN de las células cancerosas y así promueven la ruptura de las moléculas de ADN inducida por radiación y/o impiden los mecanismos normales de reparación de ADN; y se han planteado hipótesis de diversos otros potenciales mecanismos de acción para los radiosensibilizadores en el tratamiento de enfermedades.

Muchos protocolos de tratamiento de cáncer actuales emplean radiosensibilizadores en conjunción con radiación con rayos X. Los ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, sin limitaciones, los siguientes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamidz, 5-bromodexoxiuridin (BUdR), 5-yododexoxiuridina (IUdR), bromodesoxicidina, fluorodesoxiuridina (FudR), hidroxurea, cisplatino y sus análogos y derivados terapéuticamente efectivos.

La terapia fotodinámica (PDT) de cánceres emplea luz visible como activador de radiación del agente sensibilizante. Los ejemplos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen los siguientes, pero sin limitaciones: derivados de hematoporfirina, fotofrina, derivados de benzoporfirina, etioporfina de estaño, feoborbida-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinc, y sus análogos y derivados terapéuticamente efectivos.

Los radiosensibilizadores se pueden administrar en conjunción con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de otros compuestos, incluso sin limitaciones: compuestos que promueven la incorporación de radiosensibilizadores a las células objetivo; compuestos que controlan el flujo de terapéuticos, nutrientes, y/u oxígeno a las células objetivo; agentes

quimioterápicos que actúan sobre el tumor con o sin radiación adicional; u otros compuestos terapéuticamente efectivos para tratar cáncer u otras enfermedades.

Los quimiosensibilizadores se pueden administrar en conjunción con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de otros compuestos, incluso sin limitaciones: compuestos que promueven la incorporación de quimiosensibilizadores a las células objetivo; compuestos que controlan el flujo de terapéuticos, nutrientes, y/u oxígeno a las células objetivo; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor u otros compuestos terapéuticamente efectivos para tratar cáncer u otra enfermedad. Se halló que los antagonistas de calcio, por ejemplo verapamilo, son útiles en combinación con agentes antineoplásicos para establecer la quimiosensibilidad en células tumorales resistentes a agentes quimioterápicos aceptados y para potenciar la eficacia de dichos compuestos en enfermedades malignas sensibles a los fármacos.

En vista de sus propiedades farmacológicas útiles, los componentes de las combinaciones de acuerdo con la invención, es decir el uno o más de otros agentes medicinales y el compuesto de acuerdo con la presente invención se pueden formular en diversas formas farmacéuticas con fines de administración. Los componentes se pueden formular por separado en composiciones farmacéuticas individual o en una composición farmacéutica unitaria que contiene todos los componentes.

En consecuencia, la presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el uno o más de otro agente medicinal y el compuesto de acuerdo con la presente invención juntos con un portador farmacéutico.

La presente invención también se refiere al uso de una combinación de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de las células tumorales.

La presente invención también se refiere a un producto que contiene como
5 primer ingrediente activo un compuesto de acuerdo con la invención y como otro ingrediente activo uno o más agentes anticáncer, como preparación combinada para el uso simultáneo, separado o en secuencia en el tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

Los uno o más de otros agentes medicinales y el compuesto de acuerdo con la
10 presente invención se pueden administrar en forma simultánea (por ejemplo en composiciones separadas o unitarias) o secuencial en cualquier orden. En el último caso, los dos o más compuestos se administran dentro de un periodo y en una cantidad y forma que es suficiente para asegurar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico. Se apreciará que el método y el orden de administración
15 preferidos y las respectivas cantidades de dosis y regímenes para cada componente de la combinación dependerán del otro agente medicinal particular y el compuesto de la presente invención administrados, su vía de administración, el tumor particular tratado y el huésped particular tratado. El método y orden de administración óptimo y las cantidades el régimen de dosis pueden ser
20 determinados fácilmente por los expertos en la técnica mediante el uso de métodos convencionales y en vista de la información establecida en la presente.

La relación en peso del compuesto de acuerdo con la presente invención y los uno o más de otros agentes anticáncer cuando se dan en combinación puede ser determinada por el experto en la técnica. Dichas relaciones y la dosis exacta y
25 la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de acuerdo con la invención y los demás agentes anticáncer usados, la condición particular tratada, la severidad de la condición tratada, la edad, el peso, el sexo, la dieta, el

- momento de administración y la condición física general del paciente particular, el modo de administración así como otra medicación que pueda tomar el individuo, como es bien conocidos por los expertos en la técnica. Además, es evidente que la cantidad diaria efectiva puede ser reducida o incrementada según la respuesta del sujeto tratado y/o según la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención. Una relación en peso particular para el presente compuesto de la fórmula (I) y otro agente anticáncer puede variar desde 1/10 hasta 10/1, más en particular desde 1/5 hasta 5/1, aún más en particular desde 1/3 hasta 3/1.
- 10 El compuesto de coordinación de platino se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 50 a 400 mg/m^2 , particularmente para cisplatino en una dosis de aproximadamente 75 mg/m^2 y para carboplatina en aproximadamente 300 mg/m^2 por curso de tratamiento.
- 15 El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosis de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 75 a 250 mg/m^2 , particularmente para paclitaxel en una dosis de aproximadamente 175 a 250 mg/m^2 y para docetaxel en aproximadamente 75 a 150 mg/m^2 por curso de tratamiento.
- 20 El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosis de 0,1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 1 a 300 mg/m^2 , particularmente para irinotecano en una dosis de aproximadamente 100 a 350 mg/m^2 y para topotecano en aproximadamente 1 a 2 mg/m^2 por curso de tratamiento.
- 25 El derivado antitumoral podofilotoxina se administra ventajosamente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 50 a 250 mg/m^2 , particularmente para etopósido en una dosis de

aproximadamente 35 a 100 mg/m² y para tenipósido en aproximadamente 50 a 250 mg/m² por curso de tratamiento.

El alcaloide antitumoral de vinca se administra ventajosamente en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosis de aproximadamente 3 a 12 mg/m², para vincristina en una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m², y para vinorelbina en dosis de aproximadamente 10 a 30 mg/m² por curso de tratamiento.

El derivado de nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 200 a 2500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo 700 a 500 mg/m², particularmente para 5-FU en una dosis de 200 a 500 mg/m², para gemcitabina en una dosis de aproximadamente 800 a 1200 mg/m² y para capecitabina en aproximadamente 1000 a 2500 mg/m² por curso de tratamiento.

Los agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo 120 a 200 mg/m², particularmente para ciclofosfamida en una dosis de aproximadamente 100 a 500 mg/m², para clorambucilo en una dosis de aproximadamente 0,1 a 0,2 mg/kg, para carmustina en una dosis de aproximadamente 150 a 200 mg/m², y para lomustina en una dosis de aproximadamente 100 a 150 mg/m² por curso de tratamiento.

El derivado antitumoral antraciclina se administra ventajosamente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo 15 a 60 mg/m², particularmente para doxorubicina en una dosis de aproximadamente 40 a 75 mg/m², para daunorrubicina en una dosis de aproximadamente 25 a 45 mg/m², y para idarrubicina en una dosis de aproximadamente 10 a 15 mg/m² por curso de tratamiento.

El agente antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg diarios según el agente particular y la condición tratada. Tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg, con preferencia 10 a 20 mg dos veces por día, y se continúa la terapia por tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. Toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez por día, se continúa la terapia por tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. Anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg una vez por día. Droloxifeno se administra ventajosamente en una dosis de aproximadamente 20-100 mg una vez por día. Raloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez por día. Exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg una vez por día.

Los anticuerpos se administran ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, o tal como sea conocido en la técnica, si es diferente. Trastuzumab se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, particularmente 2 a $4\text{mg}/\text{m}^2$ por curso de tratamiento.

Estas dosis se pueden administrar por ejemplo una, dos o más veces por curso de tratamiento, el cual se puede repetir, por ejemplo, cada 7, 14, 21 ó 28 días.

Los compuestos de la fórmula (I), las sales por adición farmacéuticamente aceptables, en particular las sales por adición de ácido farmacéuticamente aceptables, y sus formas estereoisoméricas correspondientes pueden tener valiosas propiedades de diagnóstico y se pueden usar para detectar o identificar la

formación de un complejo entre un compuesto rotulado y otras moléculas, péptidos, proteínas, enzimas o receptores.

Los métodos de detección o identificación pueden usar compuestos que se rotulan con agentes de rotulado tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Los ejemplos de radioisótopos incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^3H y ^{14}C . Las enzimas usualmente se tornan detectables por conjugación de un sustrato apropiado, en cual a su vez cataliza una reacción detectable. Los ejemplos correspondientes incluyen, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malatodeshidrogenasa, con preferencia peroxidasa de rábano. Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aecuatorina y luciferasa.

Las muestras biológicas se pueden definir como tejido corporal o líquidos corporales. Los ejemplos de líquidos corporales son líquido ceforraquídeo, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y similares.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención.

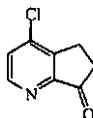
Parte experimental

En adelante en la presente, "DMF" se define como *N,N*-dimetilformamida, "DCM" se define como diclorometano, "DIPE" se define como éter diisopropílico, "DMSO" se define como dimetilsulfóxido, "EtOAc" se define como acetato de etilo, "EtOH" se define como etanol, "MeOH" se define como metanol y "THF" se define como tetrahidrofurano.

A. Preparación de los compuestos intermediarios

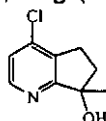
Ejemplo A1

a) Preparación del intermediario 1



Se añadió óxido de manganeso (33,31 g, 13 eq, 0,3832 mol) en porciones a una solución de 4-cloro-6,7-dihidro- 5*H*-Ciclopenta[b]piridin-7-ol (intermediario 3) [CAS 126053-15-4] (5 g, 1 eq, 0,029 mol) en DCM (50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas y luego se filtró sobre celite. El solvente se evaporó, dando como resultado 3,25 g (66%) de **intermediario 1**.

b) Preparación del intermediario 2

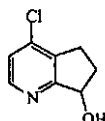


Se añadió cloruro de metilmagnesio (1,47 ml, 3,2 eq, 0,0004 mol) gota a gota a una solución de **intermediario 1** (0,220g, 1 eq, 0,0013 mol) en THF (4ml) de -5 a 0 °C bajo una corriente de N₂. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas.

A 0-10 °C, se añadieron cloruro de amonio (10% en agua) y EtOAc. La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc y luego la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (0,215 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: ciclohexano/EtOAc 50/50). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,120 g (50%) del **intermediario 2**.

Ejemplo A2

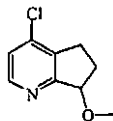
a) Preparación del intermediario 3



Se añadió tetrahidrobórato de sodio (1,92 g, 50,67 mmol) en porciones a 5 °C a una solución del **intermediario 1** (7,72 g, 46,06 mmol) en MeOH (80 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 noche y luego se vertió en agua. La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y solución de NaCl, se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó, dando como resultado 6,38 g (81,7%) del **intermediario 3**.

(50/50 mezcla RS). Este producto se usó sin ulterior purificación en la siguiente etapa.

b) Preparación del intermediario 4

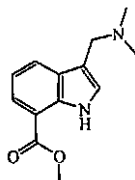


A 0 °C y bajo atmósfera de N₂, se añadió hidruro de sodio (1,06 g, 44,22 mmol) en porciones a una solución de **intermediario 3** (3,00 g, 17,70 mmol) en THF (anhidro, 30 ml). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C. Luego se añadió a 0 °C yodometano (1,65 ml, 26,53 mmol) gota a gota a la mezcla. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadió agua fría gota a gota. La mezcla se agitó durante 1 hora y luego se extrajo con EtOAc tres veces. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó, dando como resultado 3,10 g (95,4%) del **intermediario 4**.

Este producto se usó sin ulterior purificación en la siguiente etapa.

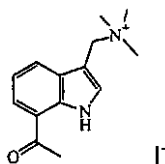
Ejemplo A3

a) Preparación del intermediario 5



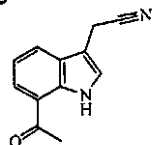
Se calentaron éster metílico del ácido 1*H*-Indol-7-carboxílico (0,091 mol), sal de Eschenmoser (0,1 mol) en ácido acético (300 ml) a 65 °C durante 2 horas. El precipitado se filtró, se disolvió en DCM y carbonato de potasio al 10%. Se añadió carbonato de potasio (sólido) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y luego se extrajo. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó, dando como resultado 10 g del **intermediario 5**.

b) Preparación del intermediario 6



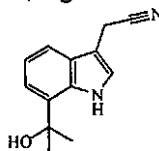
Se agitaron el **intermediario 5** (0,043 mol), yodometano (0,047 mol) en EtOH (300ml) a temperatura ambiente durante la noche. El precipitado se filtró y se secó, dando como resultado 8,3 g del **intermediario 6**.

c) Preparación del intermediario 7



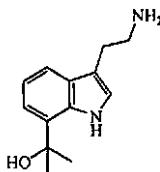
El **intermediario 6** (0,023 mol), cianuro de sodio (0,03 mol) en DMF (100 ml) se calentaron a 110 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se vertió en agua helada, se agitó durante 1 hora. El precipitado se filtró y se extrajo en DCM. La solución se extrajo, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó, dando como resultado 5,1 g del **intermediario 7**.

d) Preparación del intermediario 8



Se añadió cloruro de metilmagnesio (0,058 mol) gota a gota a una solución del **intermediario 7** (0,018 mol) en THF (50 ml) a 5 °C bajo una corriente de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 5 °C durante 1 hora. Se añadió cloruro de amonio al 10% gota a gota a 5 °C. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó, dando como resultado 4 g del **intermediario 8**.

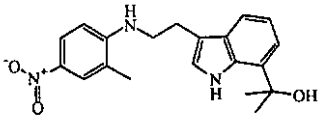
e) Preparación del intermediario 9



El **intermediario 8** (0,019 mol), níquel Raney (4 g) en MeOH/NH₃ (50 ml) se hidrogenaron a temperatura ambiente bajo 3 bares durante 2 horas. La mezcla de

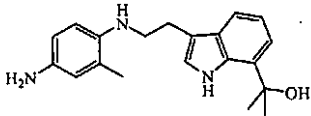
reacción se filtró sobre celite, se lavó con DCM y el filtrado se evaporó, dando como resultado 3,5 g del **intermediario 9**.

f) Preparación del intermediario 10



Una mezcla de **intermediario 9** (0,016 mol), 2-fluoro-5-nitrotolueno (0,018 mol), anión de moncarbonato de sodio (0,019 mol) en DMSO (100 ml) se calentó a 60 °C durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió agua helada, se añadió DCM. La mezcla de reacción se extrajo, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: ciclohexano/EtOAc 60/40). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 2,8 g de **intermediario 10**.

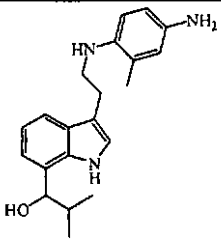
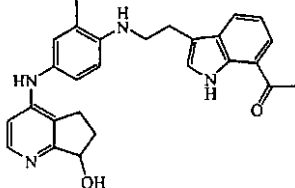
g) Preparación del intermediario 11



El **intermediario 10** (0,0079 mol), óxido de vanadio (0,05 g), tiofeno (4%) solución en DIPE (1 ml), Pt/C al 5% (1,3 g) en THF (50 ml) se hidrogenaron a presión atmosférica durante 1 noche a temperatura ambiente. La reacción se filtró y el solvente se evaporó, dando como resultado el **intermediario 11**. Este producto se usó sin ulterior purificación en la siguiente etapa.

A continuación, los intermediarios se preparan de acuerdo con el método A3

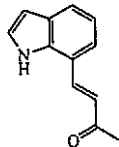
intermediario N.º 44	intermediario N.º 45

intermediario N.º 46	intermediario N.º 47
	
intermediario N.º 48	intermediario N.º 49

Ejemplo A4

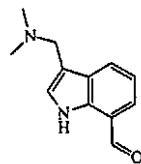
El intermediario 7 también se preparó alternativamente de la siguiente manera

a) Preparación del intermediario 12



5 Se añadió 1-(trifenilfosforaniliden)-2-propanona (34,4 mmol) en porciones a temperatura ambiente a una solución de 1H-Indol-7-carboxaldehído (34,44 mmol) en metil-benceno (60 ml). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 3 horas y luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó hasta sequedad. El residuo (17,4 g) se purificó por HPLC sobre sílice: 20-45 µm (450 g) (eluyente 10 99,5/0,5 de DCM/MeOH). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 4,3 g del **intermediario 12**.

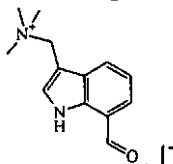
b) Preparación del intermediario 13



El **intermediario 12** (3,4 mmol) y sal de Eschenmoser (3,8 mmol) en ácido acético (10 ml) se calentaron a 65 °C durante 2 horas. El precipitado se filtró, se disolvió en DCM y carbonato de potasio al 10%. Se añadió carbonato de potasio 15 (sólido) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de

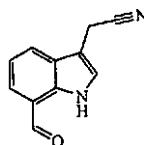
reacción se extrajo, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,7 g del **intermediario 13**.

c) Preparación del intermediario 14



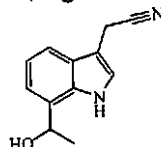
El **intermediario 13** (0,13 mol), yodometano (0,14 mol) en EtOH (300 ml) se agitaron a temperatura ambiente durante 2 días. El precipitado se filtró y se secó, dando como resultado 47 g del **intermediario 14**.

d) Preparación del intermediario 15



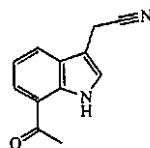
El **intermediario 14** (136,5 mmol), cianuro de sodio (177,5 mmol) en DMF (400 ml) se agitaron a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (SiOH irregular 20-45 μm 1000 g de MATREX). Fase móvil: ciclohexano 70%/EtOAc 30%). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 11,8 g del **intermediario 15**.

e) Preparación del intermediario 16



Se añadió cloruro de metilmagnesio (0,07 mol) gota a gota a una solución del **intermediario 15** (0,022 mol) en THF (50 ml). Se añadieron NH_4Cl al 10% y EtOAc. La mezcla de reacción se extrajo, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (2,9 g) se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (SiOH irregular 20-45 μm 450 g MATREX). Fase móvil : ciclohexano 60%/EtOAc 40%). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 2 g del **intermediario 16**.

f) Preparación del intermediario 7



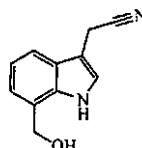
Se añadió peryodinano de Dess-Martin (24,9 ml) gota a gota a temperatura ambiente a una solución de **intermediario 16** (10 mmol) en DCM (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, luego se vertió en agua helada, se filtró sobre celite y el filtrado se extrajo con DCM. La

5 capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el solvente se concentró. El residuo (2,8 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente ciclohexano/EtOAc 60/40). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,8 g del **intermediario 7**.

10 Ejemplo A5

El intermediario 15 también se preparó alternativamente de la siguiente manera.

a) Preparación del intermediario 17

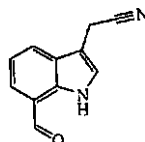


Se añadió tetrahidroaluminato de litio (0,018 mol, 0,69 g) en porciones a una solución de éster metílico de ácido 3-(cianometil)-1H-Indol-7-carboxílico (0,012 mol, 2,6 g) en THF (50 ml) a 5 °C bajo una corriente de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió agua gota a gota a 5 °C y la mezcla de reacción se filtró sobre celite, se lavó con EtOAc y se extrajo. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se

15

20 concentró, dando como resultado 2,4 g del **intermediario 17**.

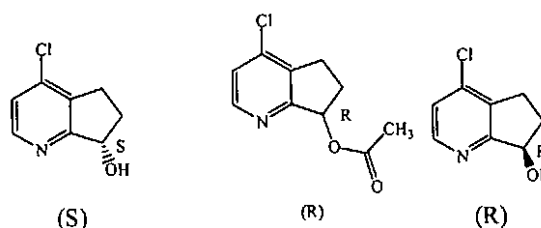
b) Preparación del intermediario 15



Se añadió peryodinano de Dess-Martin (0,016 mol) gota a gota a 5 °C a una solución de **intermediario 17** (0,0081 mol) en DCM (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre celite, el filtrado se evaporó. El residuo se purificó sobre gel de sílice por cromatografía en columna (eluyente ciclohexano/EtOAc 70/30). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,5 g del **intermediario 15**.

Ejemplo A6

Preparación de intermediarios 18, 19 y 20



intermediario 18 intermediario 19 intermediario 20

Una mezcla de 4-cloro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-ol (5 g, 0,029 mol) y Lipase Candida Antartica B (2,5 g) en éster etenílico del ácido acético (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre Celite. El Celite se lavó con DCM. El solvente del filtrado se evaporó. El residuo (6,3 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH de 100/0 a 98/2; 15-40 µm). Se recogieron dos diferentes fracciones de producto y el solvente de cada fracción de producto se evaporó, dando como resultado 2,1 g del **intermediario 18** (42%; enantiómero S) y 3,6 g del **intermediario 19** (58%; enantiómero R). Si se desea, el **intermediario 19** se puede convertir en el enantiómero R del **intermediario 18** por reacción en MeOH/NH₃, dando como resultado el **intermediario 20**.

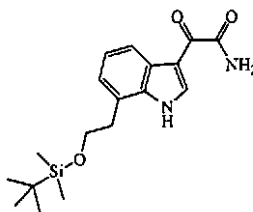
Los intermediarios 18 y 20 también se prepararon alternativamente de la siguiente manera.

Se añadió tetrahidrobórato de sodio (1,37 g, 36,10 mmol) en porciones a 5 °C a una solución de **intermediario 1** (5,50 g, 32,82 mmol) en MeOH (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 noche y luego se vertió en agua y la mezcla se extrajo tres veces en EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y solución de NaCl en agua, se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (4,42 g) se purificó por cromatografía líquida quiral supercrítica en CHIRALPAK AD-H 5 µm 250x20mm. Fase móvil : 85% de CO₂, 15% de MeOH.

Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 1,625 g (29,2%) del **compuesto 18 (enantiómero S)** (DMF, 20 °C, concentración 0,33 p/v%, 589 nm: -77,58°) y 1,620 g (29,1%) del **compuesto 20 (enantiómero R)** (DMF, 20 °C, concentración 0,33 p/v%, 589 nm : +76,74°).

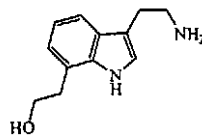
Ejemplo A7

Preparación del intermediario 21.



Se añadió cloruro de oxalilo (0,0079 mol) gota a gota a 7-[2-[[[(1,1-dimetiletil)dimetilsilil]oxi]etil]-1H-indol (0,0047 mol) en éter dietílico (20 ml) a 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a 5 °C durante 2 horas. Se añadió NH₄OH (concentrado, 20 ml) gota a gota a la solución a 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se agregaron agua y EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró, dando como resultado 1,8 g del **intermediario 21**.

Preparación del intermediario 22



Se añadió tetrahidroaluminato de litio (0,021 mol) en porciones a una solución de **intermediario 21** (0,0052 mol) en THF (50 ml) a 5 °C.

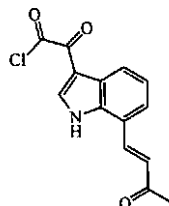
La mezcla se agitó a reflujo durante la noche, luego se enfrió hasta 5 °C sobre un baño de hielo.

- 5 El exceso de tetrahidroaluminato de litio se hidrolizó con cuidado con adición de agua gota a gota. La mezcla se filtró sobre celite, se lavó con DCM y se extrajo.

La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró, dando como resultado 0,6 g del **intermediario 22**.

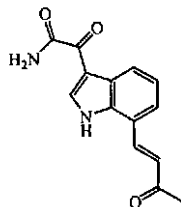
10 Ejemplo A8

a) Preparación del intermediario 23



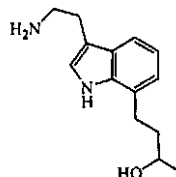
Se añadió cloruro de oxalilo (2,9 mmol) gota a gota a 5 °C a una solución de 4-(1*H*-indol-7-il)-3-buten-2-ona (2,7 mmol) en éter dietílico (10 ml). El baño frío se retiró y la reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente (1,5 horas). El precipitado se filtró y se secó, dando como resultado 0,49 g del **intermediario 23**.

b) Preparación del intermediario 24



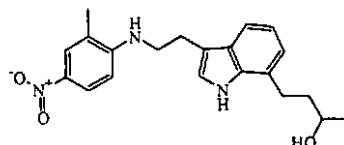
- 15 Se añadió hidróxido de amonio (10 ml) gota a gota a una solución de **intermediario 23** (0,725 mmol) en éter dietílico (10 ml) a 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El precipitado se filtró y se secó, dando como resultado 0,11 g del **intermediario 24**.

c) Preparación del intermediario 25



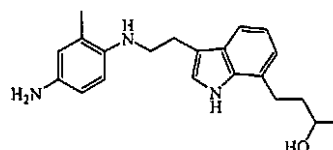
Se añadió tetrahidroaluminato de litio (39,5 mmol) en porciones a una solución de **intermediario 24** (7,9 mmol) en THF (20 ml) a 5 °C. La mezcla se agitó a 80 °C durante 2 horas, luego se enfrió hasta 5 °C sobre un baño de hielo. El exceso de tetrahidroaluminato de litio se hidrolizó con cuidado con adición de
 5 agua gota a gota. La mezcla se filtró sobre celite, se lavó con DCM y se extrajo. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró, dando como resultado 1 g del **intermediario 25**.

d) Preparación del intermediario 26



Una mezcla de **intermediario 25** (4,3 mmol), 2-fluoro-5-nitrotolueno (4,7 mmol), anión de moncarbonato de sodio (5,1 mmol) en DMSO (10 ml) se calentó
 10 a 60 °C durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió agua helada, se agregó DCM. La mezcla de reacción se extrajo, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna (eluyente : DCM/MeOH 97/3). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó. El residuo se purificó por
 15 cromatografía líquida de alto rendimiento (SiOH irregular 15-40 µm 300 g de MERCK). Fase móvil (NH₄OH 0,1%-diclorometano 99%-MeOH 1%). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 200 mg del **intermediario 26**.

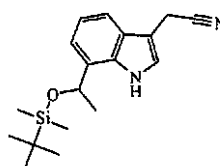
e) Preparación del intermediario 27



Una mezcla de **intermediario 26** (0,35 mmol), níquel Raney (200 mg) en MeOH (5 ml) se hidrogenó a presión atmosférica a temperatura ambiente. El residuo se filtró sobre celite, se lavó con DCM y el residuo se evaporó, dando como resultado 0,14 g del **intermediario 27**.

5 Ejemplo A9

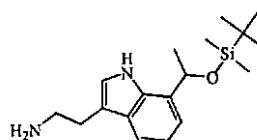
a) Preparación del intermediario 28



Se añadió cloruro de ter-butildimetilsililo (195 mg, 0,91 mmol) a una solución de **intermediario 16** (162 mg, 0,81 mmol), imidazol (143 mg, 2,1 mmol) en THF (5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El precipitado se filtró y se lavó con DCM.

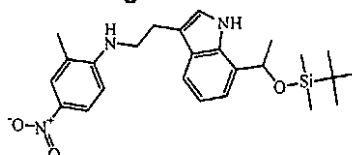
- 10 El filtrado se evaporó. El residuo (365 mg) se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice (15-40 μ m, 30 g, DCM/MeOH:100/0 a 99/1). Las fracciones puras se recogieron y se evaporó hasta sequedad, dando como resultado 190 mg del **intermediario 28**.

b) Preparación del intermediario 29



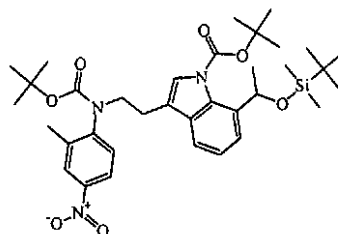
- 15 El **intermediario 28** (190 mg, 0,6 mmol), níquel Raney (0,7 g) en NH_3 en MeOH 7 N (10 ml) se agitaron a temperatura ambiente a 3 bares de H_2 durante 4 horas. La reacción se filtró sobre celite y el celite se lavó con DCM/MeOH (90/10) tres veces. El solvente se evaporó para dar 147 mg del **intermediario 29**.

c) Preparación del intermediario 30



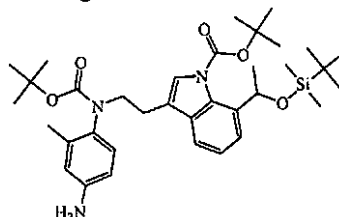
Una mezcla de **intermediario 29** (147 mg, 0,46 mmol), 1-fluoro-2-metil-4-nitro-benceno (78 mg, 0,51 mmol), sal sódica de ácido carbónico (1:1) (85 mg, 1 mmol) en DMSO (2 ml) se calentó a 65 °C durante 1 noche. La mezcla se vertió en hielo y se agitó durante 10 minutos, se añadió DCM y la mezcla se extrajo con DCM dos veces. La capa orgánica se lavó con agua, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice (15-40 µm, 30 g, ciclohexano/EtOAc 85/15). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron hasta sequedad, dando como resultado 200 mg del **intermediario 30**.

d) Preparación del intermediario 31.



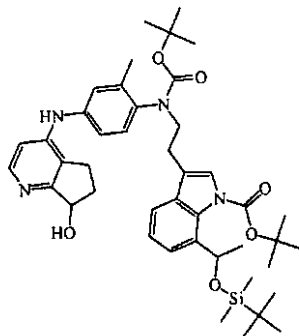
El **intermediario 30** (2,8 g, 6,17 mmol), dicarbonato de di-ter-butilo (8 g, 37 mmol), 4-dimetilaminopiridina (0,15 g, 1,2 mmol) y trietilamina (1,89 ml, 13,6 mmol) en THF (50 ml) se agitaron durante 24 horas a 60 °C. La mezcla se evaporó hasta sequedad. El residuo (7,4 g) se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento en gel de sílice (cartucho 15-40 µm, 90 g). Fase móvil (ciclohexano 50%; diclorometano 50%). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 3,3 g del **intermediario 31**.

e) Preparación del intermediario 32.



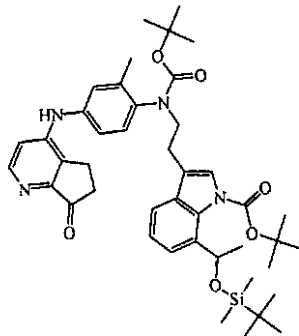
Una mezcla de **intermediario 31** (3,3 g, 5 mmol), níquel Raney (3 g) en MeOH (100 ml) se hidrogenó a 2,5 bares durante 2 horas. El residuo se filtró sobre celite, se lavó con DCM y el residuo se evaporó, dando como resultado 2,7 g del **intermediario 32**.

f) Preparación del intermediario 33



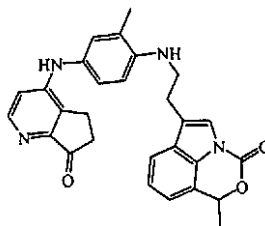
El **intermediario 32** (2,6 g, 4,2 mmol), 4-cloro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-ol (0,78 g, 4,6 mmol), HCl 4 M en dioxano (0,21 ml, 0,8 mmol) en acetonitrilo (28 ml) y EtOH (7 ml) se calentaron a 65 °C durante 72 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron agua y carbonato de potasio en polvo y la mezcla se extrajo dos veces con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (SiOH irregular 20-45 µm 450 g de MATREX). Fase móvil (NH₄OH 0,5%; diclorometano 95%; MeOH 5%) . Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 2,35 g del **intermediario 33**.

g) Preparación del intermediario 34



Se añadió óxido de manganeso (IV) (4,3 g) en porciones al **intermediario 33** (2,2 g, 2,9 mmol) y tris(2-(2-metoxietoxi)etil)amina (47 mg, 0,145 mmol) en solución a temperatura ambiente en DCM (50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se filtró sobre celite. El Celite se lavó con DCM y el solvente se evaporó, dando como resultado 1,84 g del **intermediario 34**.

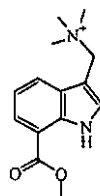
h) Preparación del intermediario 35



El **intermediario 34** (1,2 g, 1,6 mmol) en ácido trifluoroacético (1,2 ml, 15,9 mmol) y DCM (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Se añadió carbonato de potasio al 10% y la mezcla se extrajo dos veces con DCM. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se evaporó para dar 0,8 g del **intermediario 35**, usado sin ulterior purificación para la siguiente etapa.

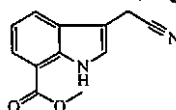
Ejemplo A10

a) Preparación del intermediario 36



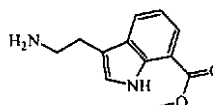
Se añadió yodometano (0,024 mol) a una solución de éster metílico del ácido 3-[(dimetilamino)metil]-1*H*-indol-7-carboxílico (0,022 mol) en EtOH (50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se concentró al vacío hasta sequedad, dando como resultado 5,6 g (68%) del **intermediario 36**.

b) Preparación del intermediario 37



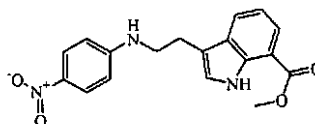
Una mezcla de **intermediario 36** (0,015 mol) y cianuro de sodio (0,019 mol) en DMF (60 ml) se agitó a 100 °C durante 2 horas. Se añadió agua. El precipitado se filtró. El filtrado se evaporó, dando como resultado 3,5 g (100%) del **intermediario 37**.

c) Preparación del intermediario 38



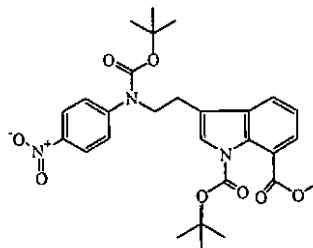
Una mezcla de **intermediario 37** (0,016 mol) y níquel Raney (3 g) en MeOH/NH₃ (50 ml) se hidrogenó a temperatura ambiente bajo una presión de 3 bar, luego se filtró sobre celite. El filtrado se evaporó, dando como resultado 3,2 g (89%) del **intermediario 38**.

d) Preparación del intermediario 39



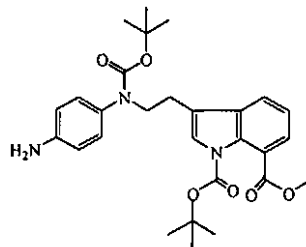
- 5 Una mezcla de **intermediario 38** (0,0092 mol), 1-fluoro-4-nitro-benceno (0,01 mol) y diisopropiletilamina (0,023 mol) se agitó a 180 °C durante 2 horas. Se agregó agua. La mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (2,6 g) se purificó por cromatografía en columna sobre kromasil (eluyente: ciclohexano/EtOAc 60/40).
- 10 Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 1,4 g (45%) del **intermediario 39**.

e) Preparación del intermediario 40



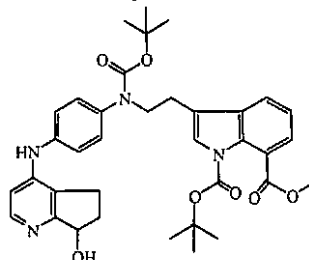
- Se añadió anhídrido de ter-butoxicarbonilo (0,015 mol) a temperatura ambiente a una mezcla de **intermediario 39** (0,05 mol) y 4-(dimetilamino)piridina (poco) en THF (50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la
- 15 noche. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (4 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: ciclohexano/EtOAc 60/40). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 3,3 g (82%) del **intermediario 40**.

f) Preparación del intermediario 41



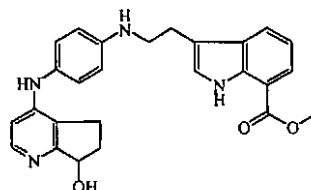
Una mezcla de **intermediario 40** (0,0061 mol) y níquel Raney (3,3 g) en MeOH (50 ml) se hidrogenó a temperatura ambiente bajo una presión de 3 bar, luego se filtró sobre celite. El Celite se lavó con DCM/MeOH (98/2). El filtrado se evaporó. El residuo (2,8 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: ciclohexano/EtOAc 70/30). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 1,3 g (42%) del **intermediario 41**.

g) Preparación del intermediario 42



Una mezcla de **intermediario 41** (0,0018 mol), 4-cloro-6,7-dihidro- 5H-ciclopenta[b]piridin-7-ol (0,33 g) y HCl/isopropanol (5 gotas) en acetonitrilo (20 ml) se agitó a 65 °C durante 24 horas. Se agregó carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (1,1 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0,1). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,054 g del **intermediario 42**.

h) Preparación del intermediario 43

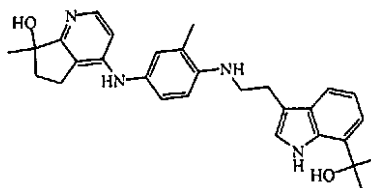


Una mezcla de **intermediario 42** (0,0009 mol) y HCl 3 N (0,0039 mol) en acetonitrilo (10 ml) se agitó a 65 °C durante 3 horas. Se agregó carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (0,4 g, 100%) se
 5 cristalizó en éter dietílico/acetonitrilo. El precipitado se filtró y se secó, dando como resultado 0,3 g de **intermediario 43**, punto de fusión 164 °C.

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

Preparación del compuesto 1

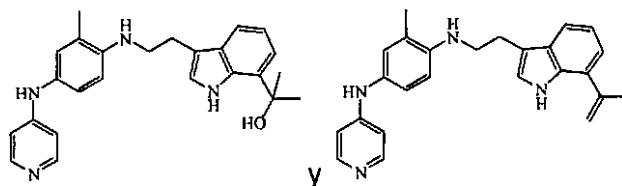


10 El **intermediario 11** (1,00 g, 3,092 mmol), el **intermediario 2** (0,437 g, 2,381 mmol), HCl (0,155 ml, 0,618 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se agitaron durante 5 horas a 65 °C. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se alcalinizó con carbonato de potasio (10% en agua) y se extrajo con DCM tres veces. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el
 15 solvente se evaporó. El residuo (1,37 g) se purificó por fase normal sobre sílice 5 µm 150x30,0 mm). Fase móvil (gradiente de 0% de NH₄OH, 100% de DCM, 0% de MeOH a 0,8% de NH₄OH, 92% de DCM, 8% de MeOH). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó. El residuo (0,350 g) se extrajo en acetonitrilo durante 1 semana a temperatura ambiente. Este producto se cristalizó
 20 y se filtró y se secó al vacío, dando como resultado 300 mg (20,8%) del **compuesto 1**, punto de fusión 209 °C.

704

Ejemplo B2

Preparación.....de.....los
compuestos 2 y 3

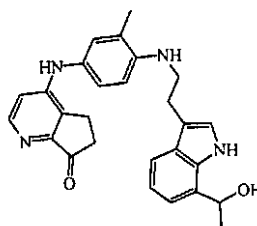


compuesto 2 compuesto 3

Una solución de **intermediario 11** (0,0031 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,0028 mol), clorhidrato de 4-bromopiridina (0,0034 mol) en acetonitrilo (20 ml) se calentó a 65 °C durante 6 horas. Se añadieron carbonato de potasio al 10% y EtOAc. La mezcla de reacción se extrajo, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo (1,3 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente 95/5/0,5 DCM/MeOH/NH₄OH). Dos fracciones se recogieron y el solvente se evaporó para dar 60 mg del **compuesto 3** y 80 mg de F2. El residuo F2 (80 mg) se purificó por cromatografía líquida supercrítica (columna AMINO 150x21,2 mm) eluyente : MeOH/CO₂ 30/70) . Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 43 mg del **compuesto 2**.

Ejemplo B3

Preparación del compuesto 4

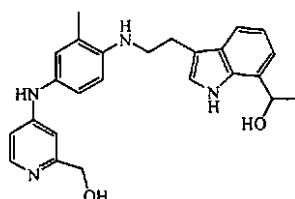


El **intermediario 35** (0,8 g, 1,7 mmol) e hidróxido de sodio 3 N (2,57 ml, 2,57 mmol) en EtOH (22 ml) y THF (10 ml) se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadieron NH₄Cl al 10% y DCM y la mezcla se filtró sobre Celite. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por fase normal sobre SiOH esférico 10 µm 60 g de

PharmPrep MERCK). Fase móvil (NH₄OH 0,1%, 95% de DCM, 5% de MeOH). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 250 mg del **compuesto 4**.

5 Ejemplo B4

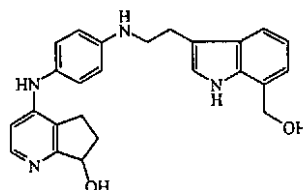
Preparación del compuesto 5



Se añadió tetrahidrobórato de sodio (0,69 mmol) a una solución del **intermediario 49** (0,46 mmol) en MeOH (5 ml) a 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se agregó agua, la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc, la capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El residuo (0,14 g) se cristalizó en acetonitrilo, el precipitado se filtró y se secó, dando como resultado 0,1 g del **compuesto 5**.

Ejemplo B5

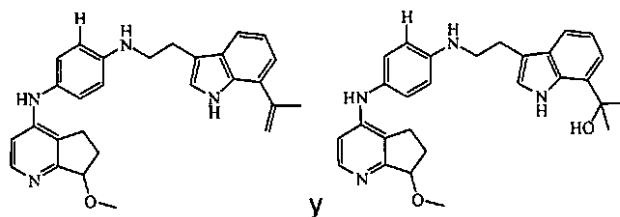
Preparación del compuesto 6



Se añadió tetrahidroaluminato de litio (0,0003 mol) en porciones a 5 °C a una solución del **intermediario 43** (0,0002 mol) en THF (4 ml) bajo una corriente de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se agregó agua. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (0,18 g) se purificó por cromatografía en columna sobre kromasil (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 98/2/0,2 a 85/15/1; 3,5µm). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,066 g (70%) del **compuesto 6**.

Ejemplo B6

Preparación de los
compuestos 7 y 8

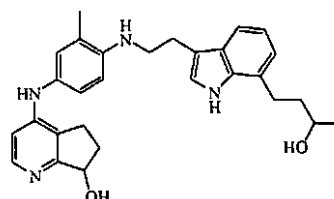


compuesto 7 compuesto 8

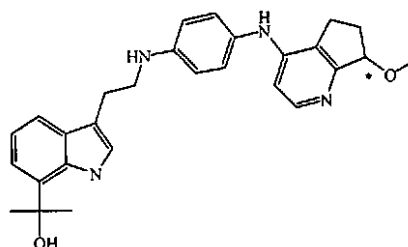
El **intermediario 47** (1,00 g, 3,23 mmol), el **intermediario 4** (0,653 g, 3,55 mmol), HCl/dioxano (0,242 ml, 0,97 mmol) en acetonitrilo (15 ml) se agitaron durante 1 noche a 70 °C. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Luego se añadieron agua y carbonato de potasio (10% en agua). La mezcla se extrajo tres veces con DCM. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el solvente se evaporó. El residuo se purificó por fase normal sobre gel de sílice (cartucho 15-40 µm 30 g). Fase móvil (96% de DCM, 4% de MeOH). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 0,092 g (6,5%) del **compuesto 7** y 0,030 g (2,0%) del **compuesto 8**.

Ejemplo B7

Preparación del compuesto 9



El **intermediario 27** (0,41 mmol) y 4-cloro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-ol (0,46 mmol) se calentaron a 125 °C durante 2 horas. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente 90/10/0,1 DCM/MeOH/NH₄OH). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó, dando como resultado 58 mg del **compuesto 9**.

Ejemplo B8**Preparación de los compuestos 24****y 25**

Comp. N.º 24: *S

Comp. N.º 25: *R

* significa estereoquímica relativa (no se conoce la estereoquímica absoluta). Así, si el compuesto 24 es el enantiómero S, entonces el compuesto 25 es el enantiómero R o si el compuesto 24 es el enantiómero R, entonces el compuesto 25 es el enantiómero S.

La reacción se realizó bajo una atmósfera de N₂.

Una mezcla del **intermediario 47** (11,31 mmol), intermediario 4 (12,44 mmol), Pd(dba)₂ (1,13 mmol), BINAP (1,13 mmol) y tBuONa (22,62 mmol) en tolueno (100 ml) se agitó a reflujo durante la noche. La mezcla se filtró, se lavó con MeOH y se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (columna Synergy 50*250 mm, 10 µm; eluyente: CH₃CN/H₂O (0,1% de ácido trifluoroacético) gradiente de 15% de CH₃CN en tiempo 0 min a 40% de CH₃CN en tiempo 25 min). La fracción deseada se recogió y el solvente se evaporó al vacío. El residuo se extrajo con DCM, se lavó con NaHCO₃ acuoso, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para dar compuesto 8 (3,8 g, 98% de pureza, 65% de rendimiento), que se separó por cromatografía líquida supercrítica Chiralcel OJ, 20 µm, 250 mm * 20 mm; CO₂ supercrítico: isopropanol (0,05% de dietilamina),

40:60 v/v, 70 ml/min) para dar dos fracciones; 1000,79 mg (19%) del **compuesto 24**, punto de fusión 110,5-111,6 °C.

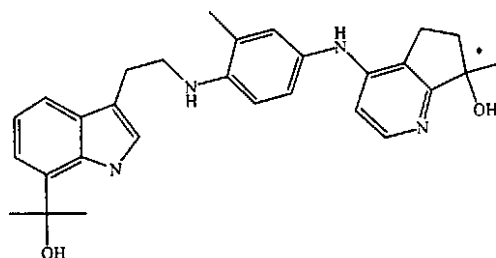
(ee%=99%, $[\alpha]_D^{20} = + 5,034^\circ$ (longitud de onda = 589, 20 °C en metanol, concentración 10,33 mg/ml)

5 y 939,19 mg (18%) del **compuesto 25**, punto de fusión 111,4-113,3 °C.

(ee% = 99%, $[\alpha]_D^{20} = -3,443^\circ$, (longitud de onda = 589, 20 °C en MeOH, concentración 10,74 mg/ml).

Ejemplo B9

Preparación de los compuestos



Comp. N.º 26: *S

Comp. N.º 27: *R

* significa estereoquímica relativa (no se conoce la estereoquímica absoluta). Así, si el compuesto 26 es el enantiómero S, entonces el compuesto 27 es el enantiómero R o si el compuesto 26 es el enantiómero R, entonces el compuesto 27 es el enantiómero S.

10 La reacción se llevó a cabo bajo una atmósfera de N₂.

Una mezcla del **intermediario 11** (9,25 mmol), intermediario 2 (9,25 mmol), tBuONa (18,5 mmol), Pd(dba)₂ (0,93 mmol) y BINAP (0,93 mmol) en tolueno (40 ml) se calentó hasta reflujo y se agitó durante 3 horas. La mezcla resultante se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. La filtración se evaporó al vacío y el

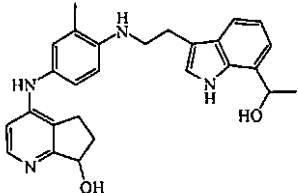
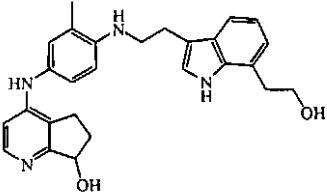
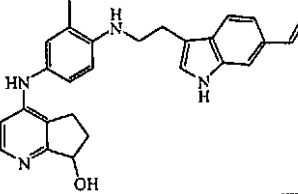
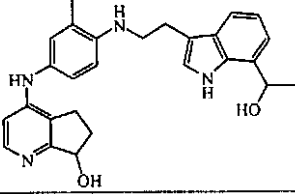
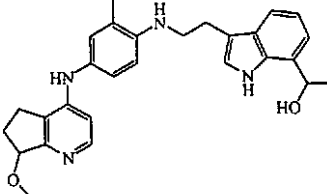
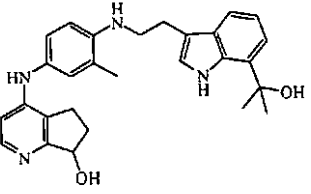
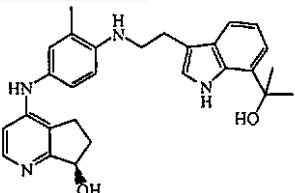
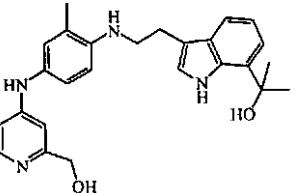
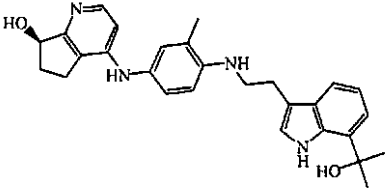
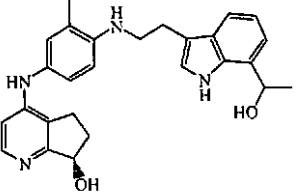
residuo se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (columna Synerge 50*250 mm, 10 µm; eluyente: CH₃CN/H₂O (0,1% de ácido trifluoroacético) gradiente de 10% de CH₃CN en tiempo 0 min a 40% de CH₃CN en tiempo 25 min). Las fracciones deseadas se recogieron y se ajustaron a pH > 7. El solvente se concentró y se extrajo con acetato de etilo (3 veces 100 ml) y las capas orgánicas deseadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y el solvente se evaporó al vacío para obtener 2,5 g (57%) del compuesto 1 que se separó por cromatografía líquida supercrítica (AD 250 mm*20 mm, 20 µm; CO₂ supercrítico: isopropanol (0,05% de dietilamina) 40:60, v/v, 70 ml/min) para dar 2 fracciones.

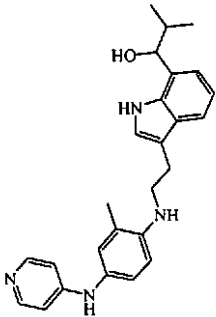
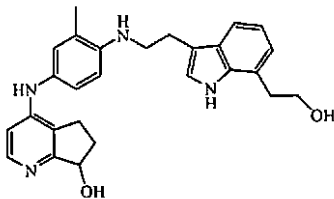
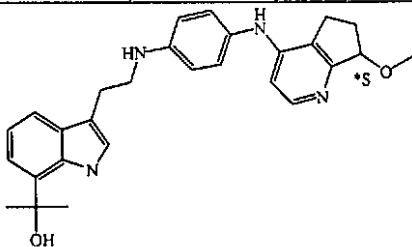
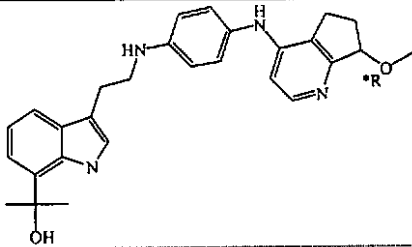
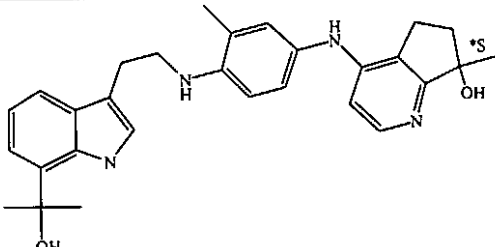
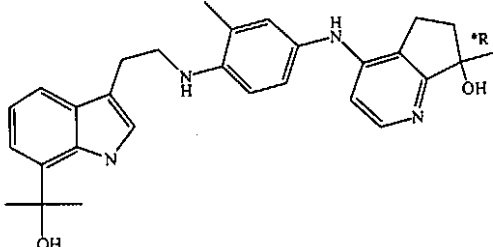
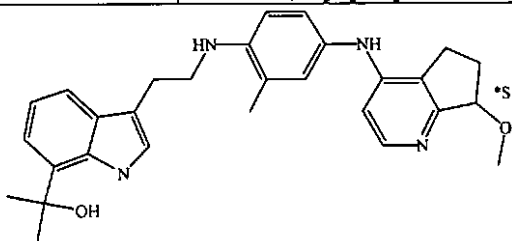
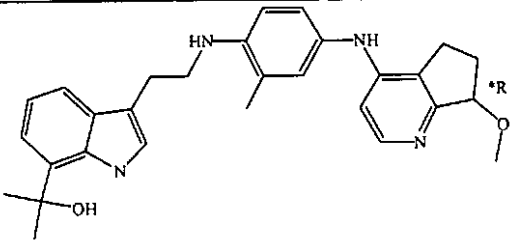
La fracción 1 (1 g) luego se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (columna Synergy 50*250 mm, 10 µm; eluyente: CH₃CN/H₂O (0,1% de ácido trifluoroacético) gradiente de 10% de CH₃CN en tiempo 0 min a 40% de CH₃CN en tiempo 25 min) para dar 0,88 g (20%) del **compuesto N.º 26**, punto de fusión 122,3-124 °C, (ee = 100%).

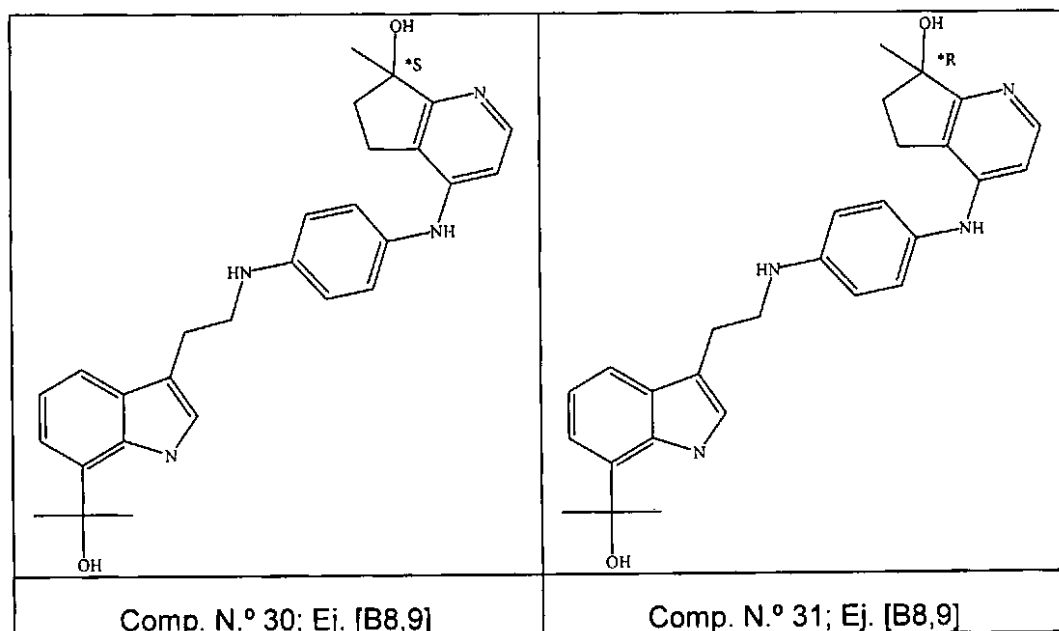
La fracción 2 (1 g) luego se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (columna Synergy 50*250 mm, 10 µm; eluyente: CH₃CN/H₂O (0,1% de ácido trifluoroacético) gradiente de 10% de CH₃CN en tiempo 0 min a 40% de CH₃CN en tiempo 25 min) para dar 0,96 g (22%) del **compuesto 27**, punto de fusión 121,4-122,6 °C (ee = 99%).

La Tabla 1 enumera los compuestos que se prepararon de acuerdo con uno de los Ejemplos anteriores.

Tabla 1

	
Comp. N.º 12; Ej. [B1]	Comp. N.º 13; Ej. [B1]
	
Comp. N.º 14; Ej. [B1]	Comp. N.º 15; Ej. [B1]
	
Comp. N.º 16; Ej. [B1]	Comp. N.º 17; Ej. [B1]
	
Comp. N.º 18; Ej. [B1];	Comp. N.º 19; Ej. [B1];
	
Comp. N.º 20; Ej. [B1]	Comp. N.º 21; Ej. [B1]

	
Comp. N.º 22; Ej. [B2]	Comp. N.º 23; Ej. [B1]
	
Comp. N.º 24; Ej. [B8]	Comp. N.º 25; Ej. [B8]
	
Comp. N.º 26; Ej. [B9]	Comp. N.º 27; Ej. [B9]
	
Comp. N.º 28; Ej. [B8,9]	Comp. N.º 29; Ej. [B8,9]



* significa estereoquímica relativa

Caracterización de compuestos

Puntos de fusión:

- 5 Los valores son valores pico o rangos de fusión, y se obtuvieron con incertezas experimentales comúnmente asociadas con este método analítico.

Kofler

- Para el compuesto 4, el punto de fusión se obtuvo con un mesada caliente de Kofler, que consiste de una placa calentadora con gradiente lineal de temperatura, un señalador deslizante y una escala de temperatura en grados Celsius.
- 10

WRS-2A

- Para el compuesto 11, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, el punto de fusión se determinó con un aparato de punto de fusión WRS-2A adquirido de Shanghai Precision and Scientific Instrument Co. Ltd. El punto de fusión se midió con un índice de calentamiento lineal de 0,2-5,0 °C/minuto. El valor informado es un rango de fusión. La máxima temperatura era 300 °C.
- 15

DSC

Para el compuesto 1, el punto de fusión se determinó con DSC (calorimetría diferencial de barrido). El punto de fusión se midió con un gradiente de temperatura de 10 °C/minuto. La máxima temperatura era de 350 °C. Los valores son valores pico.

LCMS

Para la caracterización por LCMS de los compuestos de la presente invención, se usó el siguiente procedimiento.

Procedimiento general A

La medición por HPLC se efectuó mediante el uso de un sistema Alliance HT 2795 (Waters) que comprende una bomba cuaternaria con degasificador, un automuestreo, un detector de disposición de diodo (DAD) y una columna tal como se especifica en los respectivos métodos más adelante, la columna se mantiene a una temperatura de 30 °C. El flujo desde la columna se dividió a un espectrómetro MS. El detector MS fue configurado con una fuente de ionización por electrospray. El voltaje de la aguja capilar era de 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 100 °C sobre LCT (espectrómetro de masa Time de Flight Zspray™ de Waters. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se efectuó con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Procedimiento general B

La medición de LC se efectuó mediante el uso de un sistema UPLC (cromatografía líquida de ultrarrendimiento) Acquity (Waters) que comprende una bomba cuaternaria con degasificador, un automuestreo, un detector de disposición de diodo (DAD) y una columna tal como se especifica en los respectivos métodos más adelante, la columna se mantiene a una temperatura de 40 °C. El flujo desde la columna se dividió a un espectrómetro MS. El detector MS fue configurado con una fuente de ionización por electrospray. El voltaje de la

aguja capilar era de 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 130 °C sobre el Quattro (espectrómetro de masa de triple cuádrupolo de Waters). Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se efectuó con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

5 **Procedimiento general C**

La medición por HPLC se efectuó mediante el uso de un módulo Agilent 1100 que comprende una bomba, un detector de disposición de diodo (DAD) (longitud de onda usada 220 nm), un calentador de columna y una columna tal como se especifica en los respectivos métodos más adelante. El flujo desde la columna se dividió a un Agilent MSD Series G1946C y G1956A. El detector MS fue configurado con API-ES (ionización de electrospray a presión atmosférica). Los espectros de masa se adquirieron por barrido de 100 a 1000. El voltaje de la aguja capilar era de 2500 V para el modo de ionización positivo y de 3000 V para el modo de ionización negativo. El voltaje de fragmentación era de 50 V. La temperatura de secado de gas se mantuvo a 350 °C con un flujo de 10 l/min.

Método 1

Además del procedimiento general A: Se efectuó HPLC de fase inversa en una columna Xterra-MS C18 (5 μ m, 4,6 x 150 mm) con una velocidad de flujo de 1,0 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: 100 % de 7 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo; se usaron para correr una condición de gradiente desde 85 % de A, 15 % de B (retener durante 3 minutos) hasta 20 % de A, 80 % de B en 5 minutos, retener a 20 % de A y 80 % de B durante 6 minutos y reequilibrar con las condiciones iniciales durante 3 minutos. Se usó un volumen de inyección de 20 μ l. El voltaje de cono era de 20 V para el modo de ionización positivo y de 20 V para el modo de ionización negativo. Los espectros de masa se adquirieron por barrido desde 100 hasta 900 en 0,8 segundos usando un retraso entre barridos de 0,08 segundos.

Método 2

Además del procedimiento general B: Se efectuó UPLC de fase inversa en una columna Waters Acquity BEH (hibrido en puente de etilsiloxano/sílice) C18 (1,7 μ m, 2,1 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 0,35 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: 95 % de 7 mM de acetato de amonio / 5 % de acetonitrilo; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo) se usaron para correr una condición de gradiente desde 90 % de A y 10 % de B (retener durante 0,5 minutos) hasta 8 % de A y 92 % de B en 3,5 minutos, retener durante 2 min y volver a las condiciones iniciales en 0,5 min, retener durante 1,5 minutos. Se usó un volumen de inyección de 2 μ l. El voltaje de cono era de 20 V para el modo de ionización positivo y de 20 V para el modo de ionización negativo. Los espectros de masa se adquirieron por barrido desde 100 hasta 1000 en 0,2 segundos usando un retraso entre barridos de 0,1 segundos.

Método 3

Además del procedimiento general C: Se efectuó HPLC de fase inversa en una columna YMC-Pack ODS-AQ, 50x2,0 mm de 5µm con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,05 % de TFA). Primero se retuvo 90 % de A y 10 % de B durante 0,8 minutos. Luego se aplicó un gradiente a 20 % de A y 80 % de B en 3,7 minutos y se retuvo durante 3 minutos. Se usaron típicos volúmenes de inyección de 2 µl. La temperatura de la estufa era de 50 °C (polaridad MS: positiva)

Tabla 2: datos de LCMS y puntos de fusión (tiempo de retención: R_t en minutos), pico (MH)⁺, procedimiento de LCMS se refiere al método usado para LCMS.

Comp. N.º	LCMS			Puntos de fusión
	R_t	(MH) ⁺	Procedimiento	
1	3,39	471	2	209 °C
2	3,35	401	2	
4	3,19	441	2	121°C
5	2,97	417	2	
6	7,47	415	1	
7	3,94	439	2	
8	3,45	457	2	
9	8,51	471	1	
10	3,05	457	2	
11	3,01	473	3	221,0-222,5 °C
12	3,07	443	2	
13	3,00	443	2	
14	3,49	425	2	

Comp. N.º	LCMS			Puntos de fusión
15	8,22	443	1	
16	3,34	457	2	
17	3,32	457	2	
18	8,68	457	1	
20	8,62	457	1	
21	8,2	443	1	
22	8,95	415	1	
23	2,93	443	3	
24				110,5-111,6 °C
25				111,4-113,3 °C
26				122,3-124 °C
27				121,4-122,6 °C
28				98,3-100 °C
29				96,8-99 °C
30				111,5-112,3 °C
31				112,7-113,6 °C

Rotación óptica

La rotación óptica se midió mediante el uso de un polarímetro. $[\alpha]_D^{20}$ indica la rotación óptica medida con luz en la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20 °C. La longitud de pase celular es de 1 dm. Detrás del valor real se mencionan la concentración y el solvente de la solución usada para medir la rotación óptica.

Tabla 3: rotación óptica

Comp. N.º	$[\alpha]_D^{20}$	Concentración	Solvente
18	-37,4°	0,516 % p/v	DMF
20	+36,87°	0,575 % p/v	DMF
21	-39,68°	0,378 % p/v	DMF
24	+5,03°	10,30 mg/ml	MeOH
25	-3,44°	10,70 mg/ml	MeOH
26	-13,74	8,59 mg/ml	Cloroformo
27	+11,89	9,00 mg/ml	Cloroformo
30	-5,25	4,00 mg/ml	MeOH
31	+7,99	4,00 mg/ml	MeOH
28	-4,90	10,00 mg/ml	MeOH
29	+5,69	9,89 mg/ml	MeOH

C. Ejemplo farmacológico:

5 La capacidad de los presentes compuestos para conservar p53 en las células A2780 se midió mediante el ensayo de inmunosorción ligado a enzima p53. El ensayo p53 es un enzimoimmunoensayo “en emparejado” que emplea dos anticuerpos policlonales. Un anticuerpo policlonal, específico para la proteína p53, se inmoviliza sobre la superficie de las cavidades de plástico. Todo p53 presente en la muestra a ensayar se fija al anticuerpo de captura. El anticuerpo policlonal detector biotinilado también reconoce la proteína p53, y se fija a cualquier p53 que haya sido retenido por el anticuerpo de captura. El anticuerpo detector, a su vez, se fija a la estreptavidina conjugada a peroxidasa de rábano. La peroxidasa de rábano cataliza la conversión del sustrato cromogénico o-fenilendiamina, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de proteína p53 ligada a la placa. El

10

15

120

producto de reacción coloreado se cuantifica mediante el uso de un espectrofotómetro. Se logra la cuantificación mediante la construcción de una curva estándar usando concentraciones conocidas de la proteína p53 rotulada con HIS purificado recombinante (ver ejemplo C.1.).

5 C.1. p53 ELISA

Se cultivaron células A2780 (ATCC) en RPMI 1640 suplementado con 10% de suero fetal bovino (FCS), 2 mM de L-glutamina y gentamicina a 37 °C en un incubador humidificado con 5% de CO₂.

Las células A2780 se sembraron a 20.000 células por cavidad en una placa
10 de 96 cavidades, se cultivaron durante 24 horas y se trataron con compuesto durante 16 horas a 37 °C en a incubador humidificado. Después de la incubación, las células se lavaron una vez con solución fisiológica con buffer fosfato y se añadió 30 µl por cavidad de buffer RIPA bajo en sales (20 mM de tris, pH 7,0, 0,5 mM de EDTA, 1% de Nonidet P40, 0,5 % de DOC, 0,05% de SDS, 1 mM de
15 PMSF, 1 µg/ml de aprotinina y 0,5 µ/ml de leupeptina). Las placas se colocaron sobre hielo durante 30 minutos para completar la lisis. Se detectó la proteína p53 en los lisados mediante el uso de ELISA en emparejado, descrito a más delante.

Placas de 96 cavidades EIA/RIA de poliestireno de alta fijación (Costar 9018) se recubrieron con el anticuerpo de captura pAb1801 (Abcam ab28-100) a
20 una concentración de 1 µg/ml en buffer de cubierta (0,1 M de NaHCO₃ pH 8,2), 50 µl por cavidad. El anticuerpo se dejó adherir durante la noche a 4 °C. Las placas recubiertas se lavaron una vez con la solución fisiológica con buffer fosfato (PBS) / 0,05% de Tween 20 y se añadió 300 µl de buffer bloqueador (PBS, 1% de albúminas séricas bovinas (BSA)) durante un periodo de incubación de 2 horas a
25 temperatura ambiente. Se hicieron diluciones de proteína p53 con rótulo HIS recombinante purificado, que varían de 3-200 ng/ml en buffer bloqueador y se usaron como estándares.

Las placas se lavaron dos veces con PBS / 0,05% de Tween 20 y se añadió buffer bloqueador o estándares a 80 µl / cavidad. A los estándares se añadió 20 µl de buffer de lisis. Las muestras se añadieron a las demás cavidades a 20 µl de lisado / cavidad. Después de una incubación durante la noche a 4 °C, las placas

5 se lavaron dos veces con PBS / 0,05% de Tween 20. Se añadieron alícuotas de 100 µl de anticuerpo policlonal secundario de p53(FL-393) (Tebubio, sc-6243) en una concentración de 1 µg/ml en buffer bloqueador a cada cavidad y se dejó adherir durante 2 horas a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces con PBS / 0,05% de Tween 20. Se añadió anticuerpo de detección anticonejo

10 HRP (sc-2004, Tebubio) a 0,04 µg/ml en PBS/ 1% BSA y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces con PBS / 0,05% de Tween 20 y se añadió 100 µl de buffer de sustrato (el buffer de sustrato se preparó poco antes del uso por agregado de 1 comprimido de 10 mg de o-fenilendiamina (OPD) de Sigma y 125 µl de 3% de H₂O₂ a 25 ml de buffer OPD: 35

15 mM de ácido cítrico, 66 mM de Na₂HPO₄, pH 5,6). Después de 5 a 10 minutos, se detuvo la reacción de color por agregado de 50 µl de buffer de detención (1 M de H₂SO₄) por cavidad. La absorbancia a longitudes de onda duales de 490/655 nm se midió mediante un lector Biorad de microplaca y luego se analizaron los resultados.

20 Para cada experimento se corrieron controles (que no contienen fármaco) y una incubación de blanco (que no contiene células o fármacos) en paralelo. El valor del blanco se restó de todos los valores de control y muestra. Para cada muestra, se expresó el valor de p53 (en unidades de absorbancia) como el porcentaje del valor de p53 presente en el control. El porcentaje de con seriación

25 superior a 140 % se definió como significativo. En la presente, los efectos de los compuestos de prueba se expresan como la menor dosis que provee al menos 140% del valor para el p53 presente en el control (LAD) (ver Tabla 4.).

En algunos de los experimentos, el ensayo se adaptó y usó en placas de cultivo de 384 cavidades.

Tabla 4: Resultados de los compuestos estudiados en el protocolo de p53 por

5 ELISA anterior (células A2780)

Comp. N.º	p53-elisa LAD [microM]
6	1,0
17	0,10
12	0,10
13	1.00
19	0,10
2	0,10
5	0,10
22	3,00
15	0,10
20	0,03
18	0,03
21	1,0
9	1,0
11	0,30
14	1,0
4	0,10
10	1,0
7	0,30
8	0,10
16	0,30

Comp. N.º	p53-elisa LAD [microM]
23	3,00
1	0,10
27	0,10
24	0,03
25	0,10
31	0,10
26	0,10
30	0,10
29	0,03
28	0,10

C.2 Ensayo de proliferación

Las células de cáncer de ovario humano A2780 fueron un gentil obsequio del Dr. T.C. Hamilton (Fox Chase Cancer Centre, Pennsylvania, EE. UU.). Las
5 células se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado con 2 mM de L-glutamina, 50 µg/ml de gentamicina y 10 % de suero fetal bovino.

Reactivos usados en el ensayo de Alamar Blue

Se adquirió resazurina de Aldrich (Prod. N.º 199303). Se adquirió ferrocianuro de potasio, ferricianuro de potasio, KH₂PO₄ y K₂HPO₄ de Sigma
10 (Prod. N.º P9387, P8131, P5655 y P8281, respectivamente).

Se preparó buffer fosfato de potasio 0,1 M (PPB) como sigue: 2,72 gramos de KH₂PO₄ y 13,86 gramos de K₂HPO₄ se disolvieron en 500 ml de mili-Q H₂O, se ajustó el pH a pH 7,4 y el volumen se llevó a 1 litro con mili-Q H₂O; el buffer se esterilizó por filtración y se almacenó a temperatura ambiente. Se preparó la
15 solución madre de resazurina (PPB-A) fresca al disolver 45 mg de resazurina en

15 ml de PBS. Se preparó 30 mM de ferricianuro de potasio (PPB-B) al disolver 0,987 gramos de ferricianuro de potasio en 100 ml de PPB. Se preparó 30 mM de ferrocianuro de potasio (PPB-C) al disolver 1,266 gramos de ferrocianuro de potasio en 100 ml de PPB.

- 5 Se preparó la mezcla de PPB-A, PPB-B y PPB-C al mezclar volúmenes iguales de las respectivas soluciones. Se preparó la solución de trabajo de resazurina (denominada en la presente solución "Alamar Blue") al diluir dicha mezcla 20× (vol/vol) en PPB y esterilizar por filtrado; la solución Alamar Blue debe ser guardada a 4 °C durante un máximo de 2 semanas.

10 *Procedimiento del ensayo Alamar Blue*

- Para los experimentos en placas de 384 cavidades, las células se sembraron con una densidad de 5×10^3 células/ml en placas de cultivo de 384 cavidades Falcon (Life Technologies, Merelbeke, Bélgica), negras con fondo transparente, en 45 µl de medio de cultivo. Las células se dejaron adherir al plástico durante 24 h. El compuesto estudiado se prediluyó (1/50 en medio de cultivo) y se añadió 5 µl de compuesto prediluido a las cavidades. Después de 4 días de incubación, se añadió 10 µl de la solución Alamar Blue a cada cavidad y las células se incubaron durante otras 5 h (A2780) a 37 °C. Se midió la intensidad de la fluorescencia para cada cavidad con un lector de fluorescencia de placa
- 15 (Fluorskan, Labsystems, 540 nm de excitación y 590 nm de emisión)
- 20 (Fluorskan, Labsystems, 540 nm de excitación y 590 nm de emisión)

- Se calculó la actividad antiproliferativa como porcentaje de células que permanecían viables en condiciones tratadas *versus* control (células no tratadas). En cada experimento, el resultado para cada condición experimental es la media de 3 cavidades replicadas. Cuando correspondía, los experimentos se repitieron
- 25 para establecer curvas completas de concentración-respuesta. Cuando correspondía, se calcularon valores IC_{50} (concentración del fármaco necesaria para reducir el crecimiento celular al 50% del control) mediante el uso de análisis

probit para datos graduados (Finney, D.J., Probit Analyses, 2º Ed. Capítulo 10, Graded Responses, Cambridge University Press, Cambridge 1962). En la presente, se expresan los efectos de los compuestos de prueba como pIC₅₀ (el valor negativo del log del valor IC₅₀ (M)) (ver Tabla 5A).

5 **Tabla 5A:** Resultados de los compuestos estudiados en el protocolo de proliferación celular anterior (células A2780)

Comp. N.º	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células A2780
6	6,67
17	7,40
12	7,20
13	6,90
19	7,34
2	7,38
5	7,28
22	6,26
15	7,27
20	7,29
18	7,47
21	6,85
9	6,85
11	6,55
14	6,43
4	6,74
10	6,70
7	6,96
8	7,06

Comp. N.º	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células A2780
16	6,87
23	6,52
1	6,94
27	6,85
24	7,18
31	6,84
26	7,11
30	7,04
29	7,14
28	6,89

Los compuestos también se analizaron de acuerdo con el protocolo anterior pero usando otras líneas celulares: línea celular de cáncer colorrectal HCT116, línea celular de cáncer pulmonar de células no pequeñas H1299, línea celular de 5 cáncer de próstata humano DU145. Los resultados se informan en la Tabla 5B.

Tabla 5B

Comp. N.º	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células HCT116	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células H1299	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células DU145
6	5,39	5,03	
17	7,05	6,18	6,17
12	6,06	5,2	
13	5,61	<5	

Comp. N.º	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células HCT116	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células H1299	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células DU145
19		5,46	5,74
2		5,94	6,16
5	6,46	5,23	5,56
22		5,09	5,07
15	6,69	5,82	
20		5,72	5,73
18	7,27	6,38	6,40
21	6,83	6,12	5,22
9	6,02	5,17	5,26
11	6,67	5,81	6,21
14	<5	5,40	5,14
4	6,00	5,43	5,29
10	6,47	5,68	5,65
7	7,00	6,39	6,60
8	7,06		
16	6,68	6,73	5,98
23	5,53	5,61	5
1	6,82	6,06	5,92
27	7,08	5,99	6,00
24	7,42	6,63	6,53
31	6,94	5,84	6,04
26	7,26	6,27	6,18

123

Comp. N.º	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células HCT116	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células H1299	pIC ₅₀ de inhibición de proliferación de células DU145
30	7,19	6,02	6,14
29	7,37	6,67	6,58
28	7,11	6,73	6,52

C.3 Ensayo P450

Las proteínas CYP P450 (expresadas en *E.coli*) (3A4, 2D6, 2C9, 1A2 & 2C19) convierten sus sustratos específicos en una molécula fluorescente^{1 2}. La
5 molécula fluorescente se mide mediante el uso de un lector de placa fluorescente.
Los compuestos que inhiben la reacción enzimática dan por resultado una
disminución de la señal fluorescente.

Conversiones mediadas por las respectivas isoenzimas de citocromo P450
expresadas en cADN.

Substrate	enzyme	fluorescent molecule
CEC	CYP1A2	CHC
	CYP2C9	
MFC	CYP2C19	7-HFC
CEC	CYP2D6	CHC
	CYP3A4	
AMMC	CYP3A4	AHMC
BFC	CYP3A4	7-HFC
	CYP3A4	
DBF	CYP3A4	Fluorescein
7-BQ	CYP3A4	Quinolol

Abreviaciones:

CEC: 7-etoxi-3-cianocumarina;

CHC: 3-ciano-7-hidroxicumarina,

MFC: 7-metoxi-4-trifluorometilcomarina;

5 7-HFC: 7-hidroxi-trifluorometilcumarina,

CEC: 7-etoxi-3-cianocumarina;

CHC: 3-ciano-7-hidroxicumarina,

AMMC: 3-[2-(N,N-dietil-N-metilamino)etil]-7-metoxi-4-metilcumarina;

AHMC: clorhidrato de 3-[2-(N,N-dietilamino)etil]-7-hidroxi-4-metilcumarina,

10 BFC: 7-benciloxi-trifluorometilcumarina;

DBF: dibencilfluoresceína,

7-BQ: Benciloxiquinolona.

Mezcla de cofactores: (para todas las enzimas CYP excepto CYP 2D6)

	working solution		final concentration
G-6-P	8.25 mM	25.10 mg	3.3 mM
G-6-P-DH	1 U/ml	14.29 µl	0.4 U/ml
0.5M MgCl ₂ .6H ₂ O	8.25 mM	165.0 µl	3.3 mM
NADP	3.25 mM	25.59 mg	1.3 mM
dissolved in a 0.1 M Na-K-phosphate buffer		10 ml	

Abreviaciones:

15 G-6-P: glucosa-6-fosfato;

(JLLCCO: 298880.DOC v.1)

G-6-P-DH: glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa.

	working solution		final concentration
G-6-P	1.025 mM	3.12 mg	0.41 mM
G-6-P-DH	1 U/ml	14.29 µl	0.4 U/ml
0.5M MgCl ₂ .6H ₂ O	1.025 mM	20.5 µl	0.41 mM
NADP	20.5 µM	0.161 mg	8.2 µM
dissolve in a 0.1 M Na-K-phosphate buffer		10 ml	

Mezcla de cofactores: (para CYP2D6)

<u>CYP1A2:</u>	(CEC)	final concentration 5 pmol P450/ml
<u>CYP2C9:</u>	(MFC)	final concentration 60 pmol P450/ml
<u>CYP2C19:</u>	(CEC)	final concentration 2.5 pmol P450/ml
<u>CYP2D6:</u>	(AMMC)	final concentration 42 pmol P450/ml
<u>CYP3A4:</u>	(BFC)	final concentration 83 pmol P450/ml
	(DBF)	final concentration 5 pmol P450/ml
	(7-BQ)	final concentration 20 pmol P450/ml

Soluciones de enzima CYP P450:

Todas estas enzimas CYP se disolvieron en 0,01 M de Na-K⁺ buffer fosfato +
5 1,15% de KCl, y se mantuvo sobre hielo hasta el uso. Las enzimas CYP P450 se
almacenaron a -80 °C.

Dilución de compuesto e inhibidor de referencia:

Los compuestos y los inhibidores de referencia fueron entregados al
departamento como 5 mM de solución en DMSO. Una solución de trabajo de 5,10⁻⁴
10 M se preparó por dilución seriada usando acetonitrilo. La concentración final de
compuesto era de 10⁻⁵ M para el análisis primario, y la concentración final de
solvente era de 2 %. Después de un análisis primario en una concentración de 10⁻⁵
M, se analizaron los valores de IC₅₀ de los inhibidores potentes seleccionados en
un rango de concentración de 3,10⁻⁹-10⁻⁵ M. En el análisis primario, todos los
15 compuestos se estudiaron por triplicado.

Los inhibidores de referencia se analizaron en un rango de concentración de
10⁻⁹-10⁻⁴ M.

Furafylline:	(Ultra Fine Chemicals)	for CYP1A2
Sulfaphenazole:	in house	for CYP2C9
Tranylcypromine:	in house	for CYP2C19
Quinidine:	in house	for CYP2D6
Ketoconazole:	in house	for CYP3A4

Inhibidores de referencia:

CEC	(CYP1A2 substrate)	6.25 µl 20 mM CEC solution/5 ml total volume	5 µM
MFC	(CYP2C9 substrate)	200 µl 25mM MFC solution/5 ml total volume	200 µM
CEC	(CYP2C19 substrate)	31.25 µl 20 mM CEC solution/5 ml total volume	25 µM
AMMC	(CYP2D6 substrate)	150 µl 0.5 mM AMMC solution/5ml total volume	3 µM
BFC	(CYP3A4 substrate)	750 µl 5 mM BFC solution/5ml total volume	150 µM
DBF	(CYP3A4 substrate)	12.5 µl 2 mM DBF solution/5 ml total volume	1 µM
7-BQ	(CYP3A4 substrate)	60 µl 25 mM 7-BQ solution/5 ml total volume	60 µM

Soluciones de sustrato:

Las soluciones madre de sustrato se disolvieron en acetonitrilo, y se almacenaron a -20 °C. La solución final de trabajo se disolvió en 0,1 M de buffer fosfato de Na-K pH 7,4, y esta solución siempre se preparó fresca antes de iniciar el ensayo.

Análisis de datos

La preparación de la placa, la relación de datos, el análisis de datos, la convalidación y la aprobación de resultados y la carga de datos se realizaron en forma semiautomática con el software de Lexis-Laplace (Laplace-DLM-RVAM)

Las fórmulas usadas en los cálculos son:

$$\% \text{ de actividad} = (100/(\text{prom. control positivo} - \text{prom. control negativo})) \times (\text{prom. muestra} - \text{prom. control negativo}).$$

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \% \text{ actividad}$$

Cuando se calculó, se generó automáticamente el valor de IC₅₀ mediante extrapolación gráfica en RVAM, sobre la base de la intersección con el 50% del eje de control.

Método

El ensayo se efectuó en una placa Costar negra de 96 cavidades. Por cavidad, el ensayo comprende: 40 µl de solución de enzima CYP P450 (en las muestras de control negativo se añadió 40 µl de 0,1 M de buffer fosfato de Na-K pH 7,4 sin enzima); 40 µl de mezcla de cofactor; 2 µl de compuesto o inhibidor de referencia para las muestras de control negativo o solvente para las muestras de control positivo. Después de 5 min de preincubación a 37 °C en un incubador con agitación, se añadió 20 µl de solución de sustrato. Las placas se incubaron a 37 °C durante 10 min (CYP3A4/DBF), 15 min (CYP1A2), 30 min (CYP2C9, CYP3A4/BFC y CYP3A4/ 7-BQ & CYP2C19) y 45 min (CYP2D6). La reacción se detuvo por adición de 200 µl de acetonitrilo. Para CYP3A4/DBF, la reacción se detuvo por adición de 200 µl de 2 M de NaOH. Para CYP3A4/7-BQ la reacción se detuvo por adición de 40 µl de Tris/ acetonitrilo (1:5) (V:V , seguida de 10 minutos de centrifugación a 2000 rpm. La señal fluorescente fue detectada por un lector fluorescente Victor2 (Wallac) o Fluoroskan (Labsystems). La longitud de onda de excitación y de emisión para las diferentes enzimas y su sustrato específico se mencionan en la Tabla 6.

Tabla 6 : Longitudes de onda de excitación y de emisión

Enzima	Sustrato	Longitud de onda de excitación	Longitud de onda de emisión
CYP1A2	CEC	410 nm	460 nm
CYP3A4	BFC	405 nm	535 nm
CYP3A4	DBF	485 nm	538 nm
CYP3A4	7-BQ	405 nm	535 nm
CYP2C9	MFC	405 nm	535 nm

Enzima	Sustrato	Longitud de onda de excitación	Longitud de onda de emisión
CYP2C19	CEC	410 nm	460 nm
CYP2D6	AMMC	390 nm	460 nm

Referencias

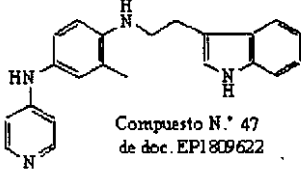
[1] Microtiter Plate Assays for Inhibition of Human, Drug-Metabolizing Cytochromes P450, Charles L. Crespi, Vaughn P. Miller, Bruce W. Penman (Gentest). Analytical Biochemistry 248, 188-190 (1997) Artículo n.º AB972145

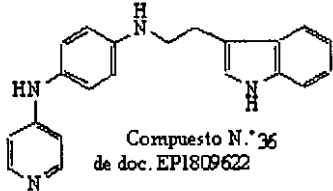
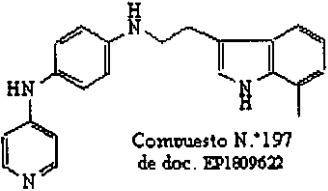
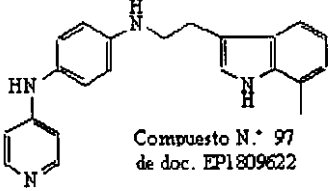
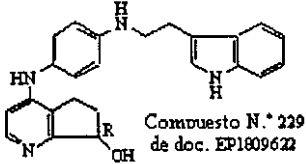
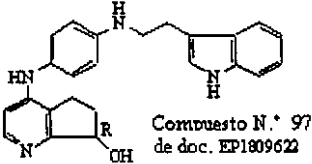
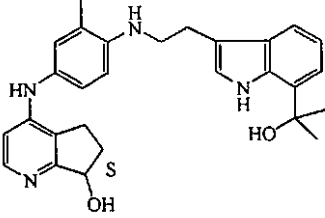
[2] Novel High Throughput fluorescent P450 assays, V.P. Miller, J. Ackermann, D.M. Stresser, C.L. Crespi. Gentest Internet site.

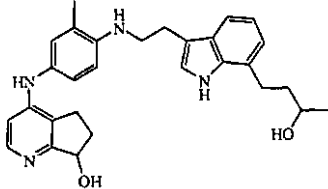
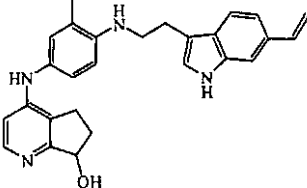
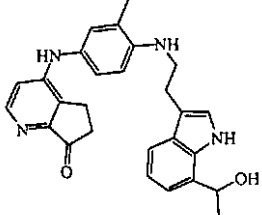
La Tabla 7 provee datos para los compuestos de la presente invención (compuestos n.º 18, 20, 9, 14 y 4) estudiados en las siete pruebas, comparados con compuestos de la técnica previa. Tal como se describió con anterioridad, se estudiaron cinco enzimas P450, una de ellas sobre tres sustratos diferentes (en consecuencia siete pruebas en total). En la tabla 7 se indica en cuántas de las pruebas P450 un compuesto mostró actividad inhibidora con $IC_{50} < 1.00E-06$.

Tabla 7: Datos comparativos sobre la inhibición de CYP

15

Compuesto	Efectos de IC_{50} de P450
 Compuesto N.º 47 de doc. EP1809622	7 veces < 1,00E-06

Compuesto	Efectos de IC ₅₀ de P450
 Compuesto N.º 36 de doc. EP1809622	3 veces < 1.00E-06
 Compuesto N.º 197 de doc. EP1809622	7 veces < 1.00E-06
 Compuesto N.º 97 de doc. EP1809622	0 veces < 1.00E-06
 Compuesto N.º 229 de doc. EP1809622	0 veces < 1.00E-06
 Compuesto N.º 97 de doc. EP1809622	0 veces < 1.00E-06
Compuesto N ° 20	
 Compuesto N ° 18	0 veces < 1.00E-06

Compuesto	Efectos de IC ₆₀ de P450
 Compuesto N ° 9	0 veces < 1.00E-06
 Compuesto N ° 14	1 vez < 1.00E-06
 Compuesto N ° 4	0 veces < 1.00E-06

C.4. Antagonismo Ro-4-1284 en ratones ^{3,4,5}

La prueba es una modificación de un procedimiento descrito por Colpaert et al. (1975).³ Ratones NMRI machos (22 ± 3 g) se alojaron en jaulas de observación de macrolon (L x W x H: 11 x 12 x17 cm; n = 3 por jaula). Al inicio de los experimentos, inmediatamente antes de las administración de compuesto de prueba, se midió la temperatura corporal inicial de los ratones con una precisión de 0,1 °C al insertar la sonda termosensible (1,0 mm de diámetro) de un termómetro eléctrico (Comark) hasta una profundidad constante de 3 cm dentro del esófago, hasta obtener una lectura estable. Se midió el diámetro de la pupila del ojo derecho con un microscopio graduado y se expresó en unidades de 1/24 mm. Quince minutos después de la administración del compuesto de prueba, los

{JLLCCO: 298880.DOC v.1}

ratones se expusieron a Ro-4-1284 (10 mg/kg, s.c.). Ro-4-1284 es un inhibidor de transporte vesicular similar a la reserpina (VMAT-2) que rápidamente agota las vesículas secretoras.^{3, 4} Quince, 30 y 60 min después de la exposición, se calificaron los ratones respecto de la apertura palpebral (0, 1, 2, 3, 4, 5) y la actividad locomotora (-1, 0, 1, 2, 3). En el intervalo de 60 min, inmediatamente después de calificar el comportamiento manifiesto, se volvieron a medir el diámetro de la pupila del ojo derecho y la temperatura esofágica. Se observaron fenómenos anormales tales como olfateo intenso, masticación, crianza, hiperemia, piloerección, salivación, temblores, convulsiones y muerte (estos últimos fenómenos también se observaron cuando ocurrieron antes de la administración de Ro-4-1284). Criterios para efectos inducidos por fármacos: reversión de ptosis: grado de apertura palpebral > 1 a 15, 30 o 60 min (2,7, 0,5 y 0% falsos controles positivos, respectivamente; n > 350); inducción de prostración: calificación -1 para locomoción a 15, 30 o 60 min (nunca observado en controles); reversión de hipomotilidad: calificación > 0 para locomoción a 15, 30 y 60 min (2,2, 0,8 y 0% falsos controles positivos, respectivamente); reversión de miosis: diámetro de pupila > 5 unidades a 60 min (0,8% de falsos positivos); potenciación de hipotermia: descenso de temperatura (en un intervalo de 1 h) > 9,0 °C (1,4% de falsos positivos); reversión de hipotermia: descenso de temperatura < 3,0 °C (1,8% falsos positivos).

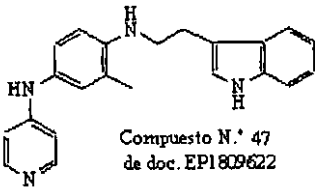
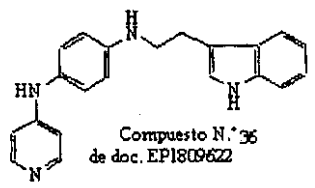
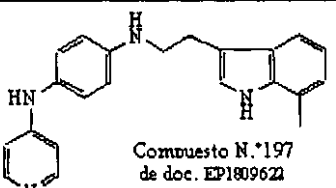
De acuerdo con el procedimiento estándar, se inyecta Ro-4-1284 15 min después de la administración subcutánea u oral y las observaciones comienzan 15 min más tarde. Las dosis se dan inicialmente a 3 animales. Cuando al menos 2 de los 3 animales muestran actividad para al menos una de las observaciones, el compuesto es considerado activo. En otros casos, el compuesto es considerado inactivo para el régimen particular de tiempo-vía-dosis y se clasifica como terminado.

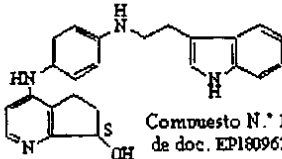
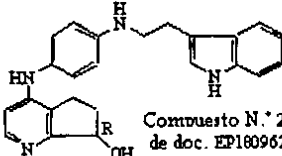
Los compuestos Nros. 20, 18, 1, 27, 24, 25, 31, 30, 7, 29, 28, 26 y 17 se estudiaron cada uno en 3 animales en una concentración de 80 mg/kg después de la administración oral y no mostraron actividad de reversión de miosis, reversión de ptosis, reversión de hipomotilidad. El compuesto 4 fue el único estudiado con 40 mg/kg y no mostró actividad de reversión de miosis, reversión de ptosis, reversión de hipomotilidad.

Los compuestos del documento EP 1809622 también se estudiaron en la misma prueba y los resultados se muestran en la Tabla 8 siguiente.

Tabla 8: Datos comparativos

10

Compuesto	Efectos secundarios neurológicos inducidos por fármacos
 Compuesto N.º 47 de doc. EP1809622	sí
 Compuesto N.º 36 de doc. EP1809622	sí
 Compuesto N.º 197 de doc. EP1809622	sí

Compuesto	Efectos secundarios neurológicos inducidos por fármacos
 Compuesto N.º 195 de doc. EP1809622	sí
 Compuesto N.º 229 de doc. EP1809622	si

Referencias

- [3] Colpaert, F.C., Lenaerts, F.M., Niemegeers, C.J.E., Janssen, P.A.J.: "A critical study on Ro-4-1284 antagonism in mice.", Arch. Int. Pharmacodyn. 215 40-90 (1975).
- [4] Colzi, A., D'Agostini, R., Cesura, A.M., Borroni, E., Da Prada, M.: "Monoamina oxidase-A inhibitors and dopamine metabolism in rat caudatus: evidence that an increased cytosolic level of dopamina displaces reversible monoamine oxydase-A inhitors in vivo.", J. Pharmacol. Exp. Ther. 265 103-111 (1993).
- [5] Filinger, E.J.: "Effect of a reserpine-like agent on the release and metabolism of [³H]NA in cell bodies and terminals.", Gen. Pharmacol. 25 1039-1043 (1994).

C.5 Prueba de parche-grapa -Inhibición de corriente de K^+ mediada por HERG en células HEK293

Se realizaron experimentos usando células HEK293 con expresión estable
15 del canal de potasio HERG. Las células se cultivaron a 37 °C y 5% de CO₂ en
frascos de cultivo en medio MEM suplementado con 10% de suero fetal bovino

inactivado por calor, 1% de solución de L-glutamina-penicilina-estreptomicina, 1% de aminoácidos no esenciales (100x), 1% de piruvato de sodio (100 mM) y 0,8% de geneticina (50 mg/ml). Antes del uso, las células se subcultivaron en medio MEM en ausencia de 5 ml de L-glutamina-penicilina-estreptomicina. Pare el uso
 5 en el sistema automático de parche-grapa PatchXpress 7000A (Axon Instruments) se cosecharon células para obtener una suspensión celular de células aisladas.

La solución extracelular contenía (mM): 150 de NaCl, 4 de KCl, 1 de $MgCl_2$, 1,8 de $CaCl_2$, 10 de HEPES, 5 de glucosa (pH 7.4 con NaOH). Solución de pipeta que contiene (mM): 120 de KCl, 10 de HEPES, 5 de EGTA, 4 de ATP-Mg2, 2 de
 10 $MgCl_2$, 0,5 de $CaCl_2$ (pH 7,2 con KOH).

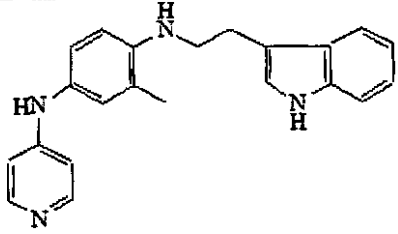
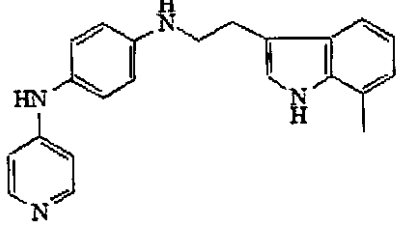
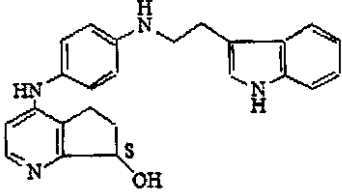
Los experimentos de parche-grapa se realizaron en modo de voltaje-grapa y se registraron las corrientes en células enteras mediante un ensayo automático de parche-grapa que utiliza el sistema PatchXpress 7000A (Axon Instruments). Las señales de corriente se amplificaron y se digitalizaron mediante un
 15 amplificador de grapas múltiples, se almacenaron y se analizaron mediante el uso de PatchXpress, software DataXpress e Igor 5.0 (Wavemetrics).

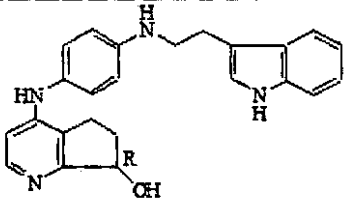
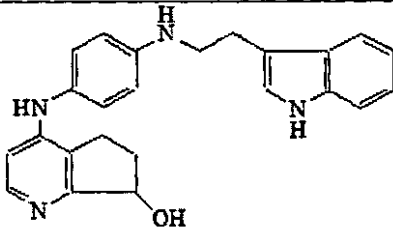
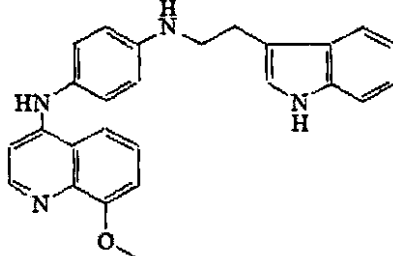
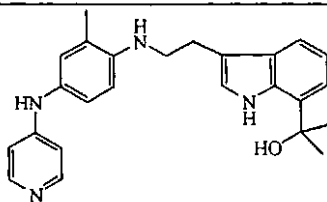
El potencial de retención era de -80 mV. La corriente HERG (corriente hacia fuera selectiva de K^+) se determinó como la máxima corriente de cola a -40 mV después de una despolarización de 2 segundos a +60 mV. La velocidad de
 20 ciclado de pulsos era de 15 s. Antes de cada pulso de prueba se dio un pulso corto (0,5 s) desde el potencial de retención hasta -60 mV para determinar la corriente de filtración (lineal). Después de establecer la configuración de la célula entera y un periodo de estabilidad, se aplicó el vehículo durante 5 minutos, seguido de la sustancia de prueba para concentraciones crecientes de 10^{-7} M, $3 \times$
 25 10^{-7} M y 3×10^{-6} M. Cada concentración de la sustancia de prueba se aplicó dos veces. El efecto de cada concentración se determinó después de 5 min como corriente promedio de 3 pulsos de voltaje secuenciales. Para determinar el grado

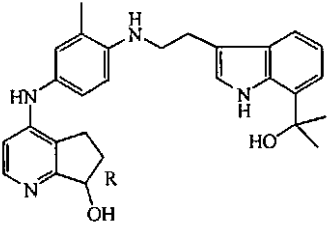
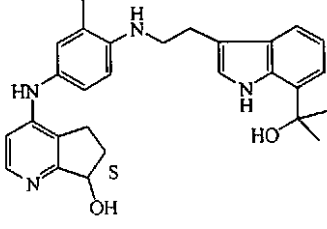
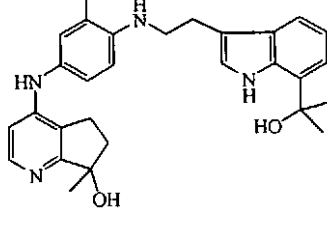
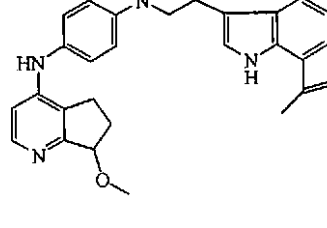
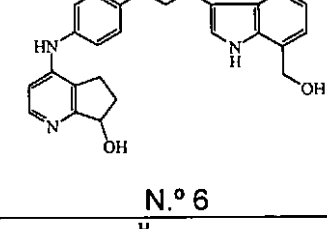
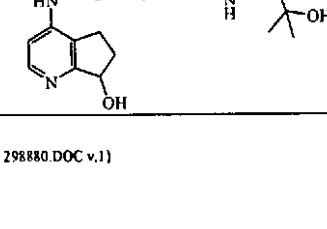
de bloqueo de corriente residual se comparó con vehículo pretratamiento. Los datos (Tabla 9) se presentan como valores medios ($\pm$ error estándar de la media (SEM) si está disponible) de porcentaje de inhibición comparado con el control (el control es 100%).

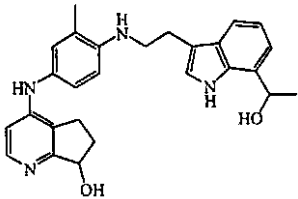
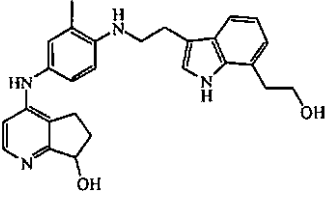
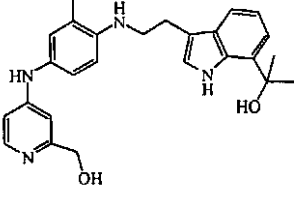
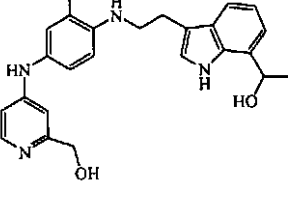
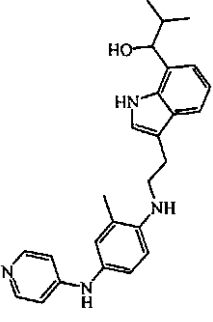
5

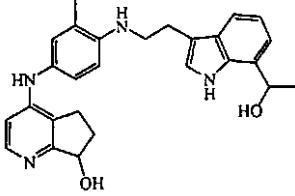
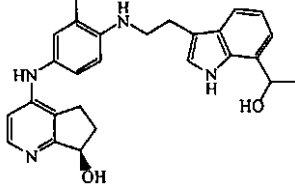
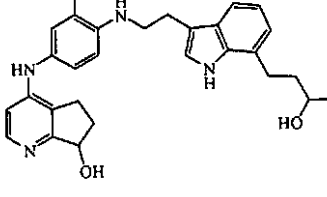
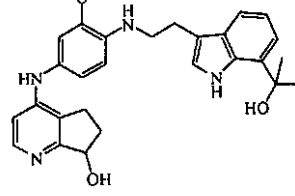
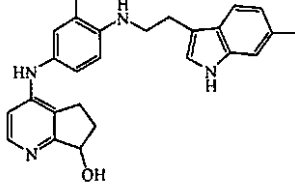
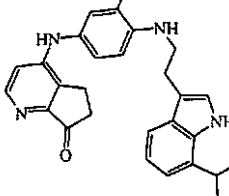
Tabla 9: Inhibición de corriente de K⁺ mediada por HERG en células HEK293

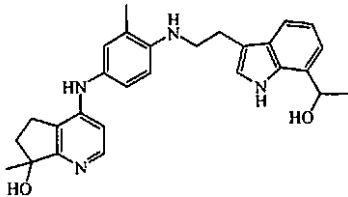
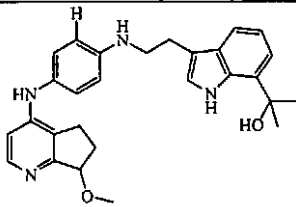
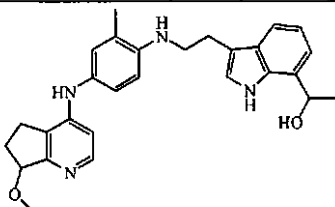
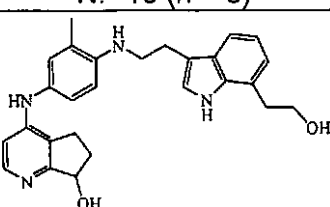
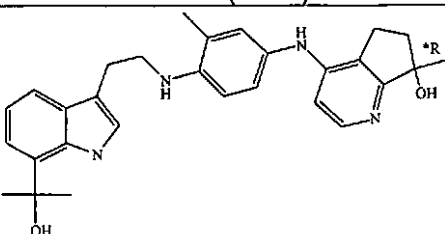
Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
 compuesto N.º 47 del documento EP 1 809 622	76	58	13
 compuesto N.º 187 del documento EP 1 809 622	68	36	5
 compuesto N.º 195 del documento EP 1 809 622	80	65	19

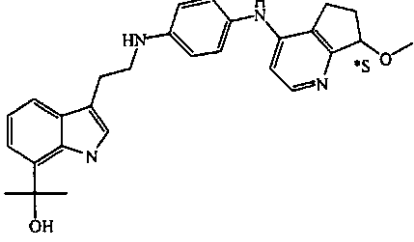
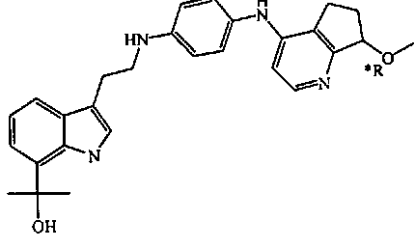
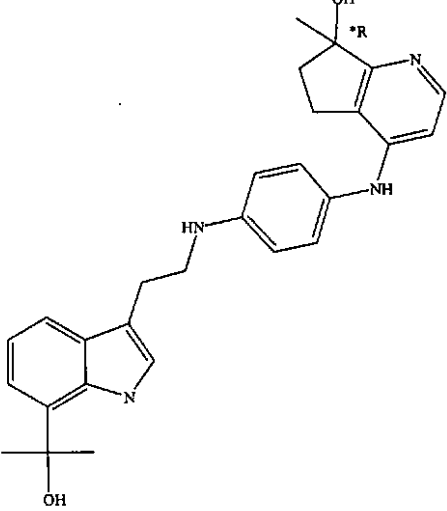
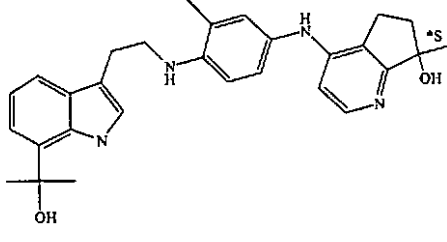
Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
 compuesto N.º 229 del documento EP 1 809 622	81	63	18
 compuesto N.º 110 del documento EP 1 809 622	86	66	22
 compuesto N.º 21 del documento EP 1 809 622	35	8	0
Compuesto 112 del documento EP 1 809 622	74	45,7	5,7
 Compuesto N.º 2	89	75	18

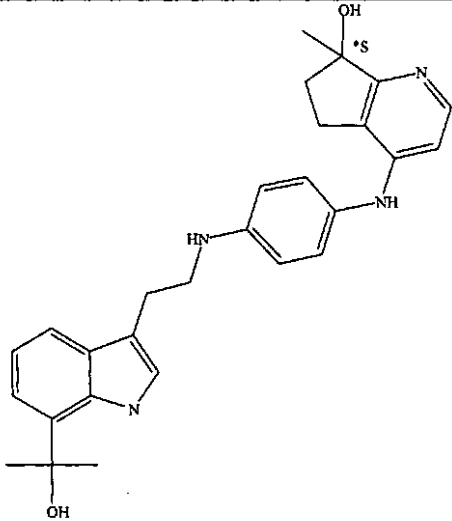
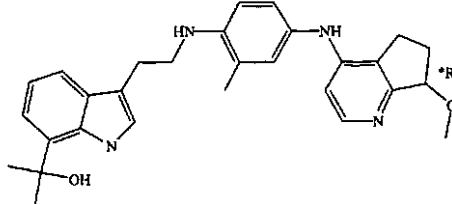
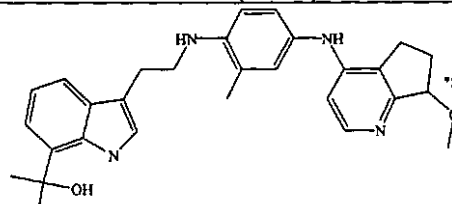
Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
 Compuesto N.º 20	88	76	26
 Compuesto N.º 18	90	82	41
 Compuesto N.º 1 (n = 4)	86 ± 2,5	82± 1,1	69 ± 5,1
 Compuesto N.º 7 (n = 3)	86 ± 2,9	53 ± 6,8	2 ± 0,3
 N.º 6	89	87	69
 N.º 6	84	70	21

Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
N.º 17			
	87	78	58
N.º 12			
	91	85	75
N.º 13			
	89	72	26
N.º 19			
	89	74	33
N.º 5			
	76	49	9
N.º 22			

Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
 N.º 15	93	88	66
 N.º 21	91	86	65
 N.º 9	87	72	47
 N.º 11 (n = 3)	90 ± 8,7	80 ± 7,2	43 ± 3,3
 N.º 14	84	57	10
 N.º 14	89 ± 4,2	85 ± 1,7	66 ± 3,3

Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
N.º 4 (n = 3)			
	82 ± 2,1	72 ± 2,6	62 ± 1,8
N.º 10 (n = 3)			
	93 ± 7,3	83 ± 6,4	25 ± 5,4
N.º 8 (n = 3)			
	89 ± 6,0	74 ± 7,9	34 ± 4,4
N.º 16 (n = 3)			
	92 ± 1,0	87 ± 2,0	72 ± 0,4
N.º 23 (n = 3)			
	90 ± 1,8	75 ± 3,3	53 ± 8,1
N.º 27 (n = 3)			

Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
 N.º 24 (n = 3)	88 ± 3,2	77 ± 4,2	29 ± 2,9
 N.º 25 (n = 3)	82 ± 1,7	65 ± 2,8	27 ± 2,7
 N.º 31 (n = 3)	91 ± 0,9	82 ± 2,3	55 ± 3,8
 N.º 26 (n = 3)	87 ± 1,7	78 ± 1,8	51 ± 5,9

Compuesto	1,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁷ M	3,10 ⁻⁶ M
 N.º 30 (n = 3)	98 ± 1,6	93 ± 6,3	80 ± 7,2
 N.º 29 (n = 3)	89 ± 2,3	82 ± 3,9	39 ± 0,8
 N.º 28 (n=4)	84 ± 4,4	79 ± 8,8	60 ± 6,4

Sorprendentemente, los presentes compuestos muestran excelente actividad *in-vitro*, la cual se combina con baja afinidad para las enzimas de P450 y ningún efecto neurológico *in vivo* inducido por fármacos, y bajos efectos cardiovasculares.

C.6. Efectos antitumorales *in vivo*

La actividad antitumoral *in vivo* se puede estudiar como sigue:

(JLLCCO: 296880.DOC v.1)

Referencia de estándar NCI:

Bissery, M-C., y Chabot, G.G. History and new development of screening and evaluation methods of anticancer drugs used in vivo and in vitro. Bull. Cancer. 1991, 78: 587-602.

5 Modelo animal:

Se usaron ratones macho inmunodeficientes (atímicos) NMRI *Nude* (Nu/Nu) (20-25 g obtenidos de Janvier, Francia) para estos estudios. El peso inicial es de aproximadamente 23 a 34 g. Todos los animales se mantuvieron en condiciones SPF "barrera completa" con libre acceso a alimento y agua. Los ratones se alojaron por grupo en un ciclo de luz:oscuridad de 12 h (las luces se encendían a las 06:00 h) a una temperatura de 19 a 22 °C y 35 a 40% de humedad en jaulas Techniplast tipo 3 de IVC. Los ratones se alimentaron con un producto estándar de laboratorio. Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las Directivas de European Communities Council (86/609/EEC) y debían ser aprobadas por la comisión de ética local. Para un modelo de xenoinjerto de tumor establecido (volumen de tumor ~ 200 mm³), los ratones se separaron en forma aleatoria de acuerdo con los volúmenes de tumor, con 10 a 14 ratones por grupo de tratamiento.

Sistema de prueba:

20 La línea celular de glioma humano U87 deriva de una paciente caucásica de 44 años de edad. Las células se cultivaron a 37 °C en atmósfera humidificada (5% de CO₂, 95% de aire), en medio DMEM suplementado con 2 mM de L-glutamina, 2,0 mM de piruvato de sodio, 25 unidades/ml de penicilina / 25 µg/ml de estreptomycin y 10% de suero fetal bovino. Las células se mantuvieron como cultivos celulares monocapa, y se pasaron dos veces por semana a 3 × 10⁶ células por frasco de T175 mediante el uso del siguiente procedimiento. Brevemente, las células se lavaron con PBS (sin Mg²⁺, Ca²⁺), antes de la adición

de tripsina-EDTA a los frascos de cultivo. Después de despegar las células, tripsina-EDTA es inactivado por adición de medio completo. La suspensión celular se transfiere entonces a tubos de Falcon de 50 ml y se centrifuga durante 3 min a 1200 rpm. El medio se aspira, con las células resuspendidas en un volumen apropiado de medio completo. Las células se cuentan en un hemocitómetro y se evalúa su viabilidad por exclusión con 0,25% de azul tripán. Luego se agrega un volumen apropiado de suspensión celular a frascos de cultivo nuevos T175 o frasco rotatorio que contienen medio fresco. Para el crecimiento en gran escala de células tumorales U87, se siembra una cantidad apropiada de frascos rotatorios con 0,5 a 1×10^7 células 1 semana antes de la inoculación de ratones. El medio se cambia dos veces durante este periodo, en donde el último cambio se hace el día anterior a la inyección celular. Las células se recogen tal como se describió con anterioridad, con la excepción de que después de la centrifugación, las células se resuspenden en medio sin suero frío (4°C). Los ratones se inyectan en la región inguinal con 1×10^7 células en total en un volumen de 200 μ l.

Diseño del estudio:

Células de glioma humano U87 se inyectan directamente en la región inguinal de ratones macho NMRI *Nude* (1×10^7 células /200 μ l/animal) el día 0 (D0). El día 8 (D8), cuando el volumen de tumor alcanza un promedio de aproximadamente 200 mm³, los ratones se separan aleatoriamente de acuerdo con el volumen de tumor, con 10 a 14 ratones por grupo de tratamiento. Los ratones luego son tratados una vez por día (QD) con vehículo (10% de HP- β -CD) o vehículo que contiene compuesto de prueba por cebadura (p.o.) administrado en un volumen de 10 ml/kg de peso corporal durante 21 días. Los tamaños de tumor y los pesos corporales se miden dos veces por semana, y los ratones se monitorean diariamente respecto de signos clínicos de toxicidad por la durante del tratamiento. Los signos clínicos de toxicidad incluyen (sin limitaciones), anorexia o

deshidratación persistente, postura, condición de moribundo, letargo, hipotermia y/o respiración dificultosa (de acuerdo con las pautas de UKCCCR para el bienestar de animales con neoplasia experimental (The UKCCCR (UK Coordinating Committee on Cancer Research) guidelines for the welfare of animals in experimental neoplasia (Julio de 1997); y Workman, P. *et al.* UKCCCR guideline. *Br. J. Cancer.* 1998, **77**: 1-10).

Análisis de datos:

Para cada animal individual, se monitorean el peso corporal y el tamaño del tumor [mediante el uso de la fórmula comúnmente aceptada: Volumen de Tumor (mm^3) = $(a \times b^2/2)$; en donde 'a' representa la longitud, y 'b' el ancho del tumor determinado mediante mediciones de calibre], dos veces durante el estudio. Una pérdida sostenida de peso corporal superior a 15% del peso corporal inicial se considera toxicidad clínica y el animal es retirado del estudio y sacrificado. El curso del tiempo de crecimiento del tumor se expresa como valores de mediana, o normalizados respecto del volumen inicial de tumor el día que se inició el tratamiento y se expresa como media $\pm$ error estándar de la media (SEM) (7 a 10 animales por grupo). Para los tumores preestablecidos, se calculan los volúmenes relativos de tumor para cada ratón (volumen de tumor tratado /volumen de tumor el día 0) y se expresa como media $\pm$ SEM para cada grupo de tratamiento. Veinticuatro horas después del último tratamiento se sacrifican los animales, se retiran los tumores y se pesan. La significancia estadística se indica por valores p de un lado según el análisis de Wilcoxon-Mann-Whitney (prueba de suma de rango de Wilcoxon) y $p < 0,05$ es considerado como estadísticamente significativo. Las proporciones de tratamiento/control (T/C) se calculan sobre la base de los volúmenes de tumor relativos finales mediante el uso de los criterios de NCI. Los criterios efectivos para las relaciones T/C son de 42%.

D. Ejemplo de composición: comprimidos recubiertos de película

Preparación del núcleo del comprimido

Una mezcla de 100 g de un compuesto de la fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g de almidón se mezcla bien y luego se humidifica con una solución de 5 g de dodecilsulfato de sodio y 10 g de polivinilpirrolidona en aproximadamente 200 ml de agua. La mezcla de polvo húmedo se tamiza, se seca y se vuelve a tamizar. Luego se agrega 100 g de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. La totalidad se mezcla bien y se comprime en comprimidos, para dar 10.000 comprimidos, donde cada uno comprende 10 mg de un compuesto de la fórmula (I).

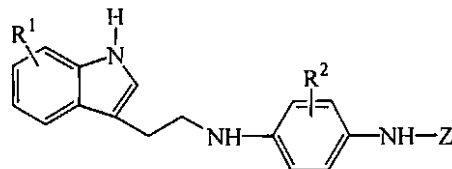
10 Cubierta

A una solución de 10 g de metilcelulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado se añade una solución de 5 g de etilcelulosa en 150 ml de diclorometano. Luego se añade 75 ml de diclorometano y 2,5 ml de 1,2,3-propanotriol, se funde 10 g de polietilenglicol y se disuelve en 75 ml de diclorometano. Esta última solución se añade a la anterior y luego se añade 2,5 g de octadecanoato de magnesio, 5 g de polivinilpirrolidona y 30 ml de suspensión de color concentrada y la totalidad se homogeniza. Los núcleos de comprimido se recubren con la mezcla así obtenida en un aparato de cobertura.

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I)

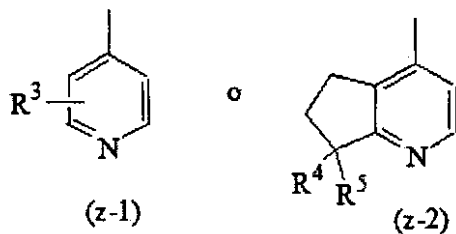


(I)

incluyendo cualquiera de sus formas estereoquímicamente isoméricas, en donde R^1 es hidroxialquilo C_{1-6} o alquenilo C_{2-6} ; siempre que el sustituyente R^1 esté ubicado en la posición 6 ó 7 del resto indol;

R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

10 Z es un radical seleccionado de



R^3 es hidrógeno o hidroxialquilo C_{1-4} ;

R^4 es hidroxilo o alquilo C_{1-4} ;

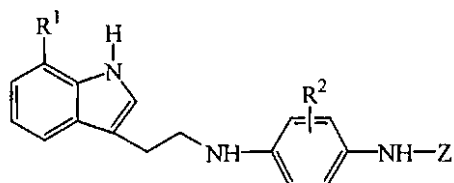
R^5 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ; o

15 R^4 y R^5 se toman juntos para formar oxo;

una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la siguiente fórmula:

20



(I-a)

5

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde R^1 es hidroxialquilo C_{1-6} .

4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde R^2 es alquilo C_{1-4} .

10

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde Z es un radical de la fórmula (z-1).

15

6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde Z es un radical de la fórmula (z-2).

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, en donde R^4 es hidroxilo y R^5 es hidrógeno.

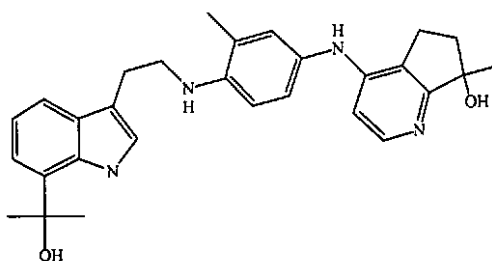
20

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, en donde R^4 es hidroxilo y R^5 es alquilo C_{1-4} .

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es un enantiómero que tiene la fórmula:

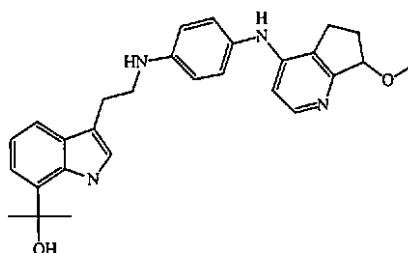
25

127



5 y que tiene una rotación levorrotatoria medida con luz a la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20 °C y una longitud de paso celular de 1 dm en cloroformo en una concentración de 8,59 mg/ml; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es un enantiómero que tiene la fórmula:



10

y que tiene una rotación dextrorrotatoria medida con luz a la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20 °C y una longitud de paso celular de 1 dm en metanol en una concentración de 10,33 mg/ml; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos.

15

11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para usar como una medicina.

12. Una composición farmacéutica que comprende un portador
20 farmacéuticamente aceptable y como un ingrediente activo una cantidad

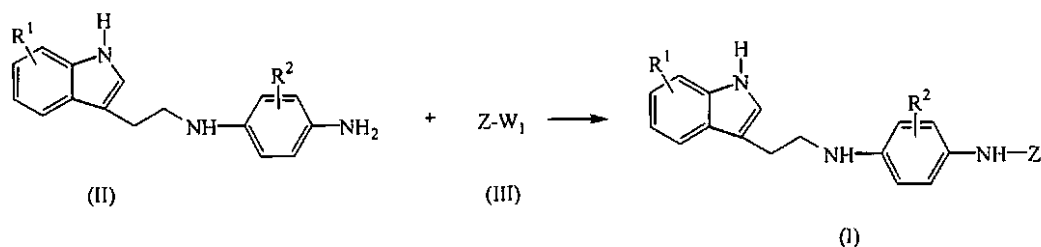
terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

13. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

14. Una combinación de uno o varios agentes anticáncer y un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

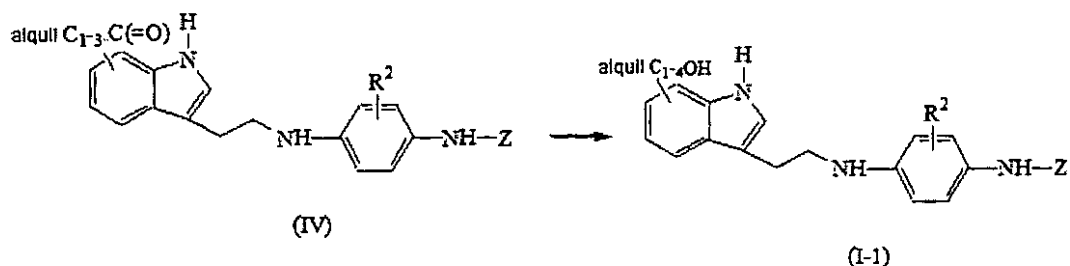
15. Un proceso para preparar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque:

a) se hace reaccionar un intermediario de la fórmula (II) con un intermediario de la fórmula (III), en donde W_1 es un grupo saliente apropiado, en un solvente inerte a la reacción opcionalmente en presencia de una base apropiada o se hace reaccionar un intermediario de la fórmula (II) con un intermediario de la fórmula (III), en donde W_1 es un grupo saliente apropiado en presencia de un catalizador apropiado, un ligando apropiado, una base apropiada y un solvente apropiado



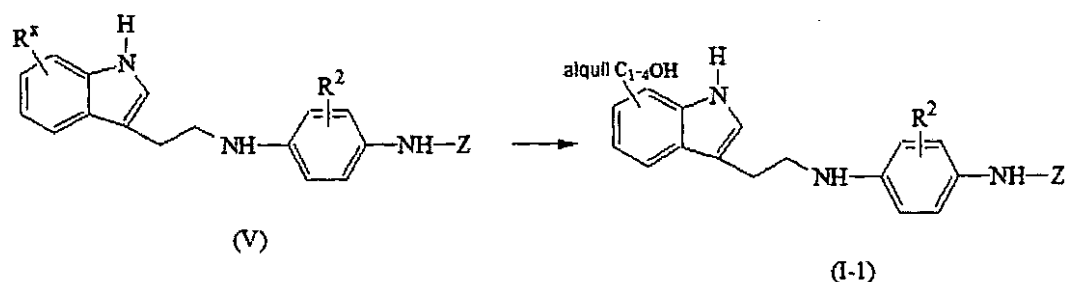
con R^1 , R^2 y Z tal como se definen en la reivindicación 1;

b) se hace reducir el correspondiente derivado carbonilo de la fórmula (IV) en presencia de un agente de reducción apropiado y un solvente apropiado,



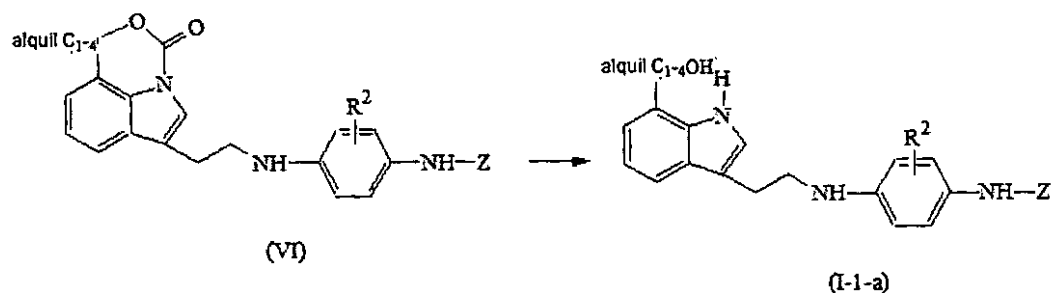
con R^2 y Z tal como se definen en la reivindicación 1;

c) se hace reducir el correspondiente derivado de éster de la fórmula (V), en donde R^x representa -alquil $C_{1-3}C(=O)O$ alquilo C_{1-4} , en presencia de un agente de reducción apropiado y un solvente apropiado,



con R^2 y Z tal como se definen en la reivindicación 1;

d) se hidroliza un intermediario de la fórmula (VI) con una base apropiada en presencia de un solvente apropiado,



con R^2 y Z tal como se definen en la reivindicación 1;

o, si se desea, se convierten compuestos de la fórmula (I) en cada uno de los otros de acuerdo con las transformaciones conocidas en la técnica y también,

si se desea, se convierten los compuestos de la fórmula (I) en una sal por

- adición de ácidos no tóxica terapéuticamente activa por tratamiento con un ácido o en una sal por adición de bases no tóxica terapéuticamente activa por tratamiento con una base o, por el contrario, se convierte la forma de sal por adición de ácidos en la base libre por tratamiento con álcali o se convierte la
- 5 sal por adición de bases en el ácido libre por tratamiento con ácido; o, si se desea, se preparan formas estereoquímicamente isoméricas o sus solvatos.

p.de: JANSSEN PHARMACEUTICA N. V.

PCT

VIII-2-1	Declaración: Derecho de solicitar y que se otorgue una patente Declaración en cuanto al derecho del solicitante, en cuanto a la fecha de registro internacional, para solicitar y que se otorgue una patente (Reglas 4.17(ii) y 51bis.1(a)(ii)), en un caso en que la declaración no sea apropiada de conformidad con la Regla 4.17(iv): Nombre (APELLIDO, primer nombre)	en relación con esta solicitud internacional No. PCT/EP2010/051316 JANSSEN PHARMACEUTICA NV tiene derecho a solicitar y a que se le otorgue una patente en virtud de lo siguiente:
VIII-2-1 (iv)		Un traspaso de SCHOENTJES, Bruno a JANSSEN PHARMACEUTICA NV, con fecha de 3 de Febrero de 2009 (03.02.2009)
VIII-2-1 (iv)		Un traspaso de DESCAMPS, Sophie a Janssen-Cilag, con fecha de 3 de Febrero de 2009 (03.02.2009)
VIII-2-1 (iv)		Un traspaso de AMBLARD, Nathalie, Claude, Isabelle a Janssen-Cilag, con fecha de 3 de Febrero de 2009 (03.02.2009)
VIII-2-1 (iv)		Un traspaso de Janssen-Cilag a JANSSEN PHARMACEUTICA NV, con fecha de 3 de Febrero de 2009 (03.02.2009)

PCT

Paper Copy (NOT for submission)

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	in relation to the international application No. PCT/EP2010/051316 JANSSEN PHARMACEUTICA NV is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i v)		an assignment from SCHOENTJES, Bruno to JANSSEN PHARMACEUTICA NV, dated 03 February 2009 (03.02.2009)
VIII-2-1(i v)		an assignment from DESCAMPS, Sophie to Janssen-Cilag, dated 03 February 2009 (03.02.2009)
VIII-2-1(i v)		an assignment from AMBLARD, Nathalie, Claudie, Isabelle to Janssen-Cilag, dated 03 February 2009 (03.02.2009)
VIII-2-1(i v)		an assignment from Janssen-Cilag to JANSSEN PHARMACEUTICA NV, dated 03 February 2009 (03.02.2009)

760

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	ADM	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 11-087033- -00000-0000 Fecha: 2011-07-12 16:35:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 378 FASENACIONAL Act. 411 PRESENTACION Folios: 160
--	------------	---

PATENTE DE INVENCION ☐ **MODELO DE UTILIDAD** ☐ **Art 33 Decisión 486/00**

☐	Indicación que solicita una patente		
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud		
☐	Descripción de la invención		
☐	Dibujos de ser estos pertinentes		
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser caso formato de descuento)		
Completa	☐	Incompleta	☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ **MODELO DE UTILIDAD PCT** ☐ **Art .33 Decisión 486/00, Circular Única**

(1) ☒	Indicación que se solicita una PCT		
(2) ☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resume)		
☐	Dibujos de ser estos pertinentes.		
(2) ☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)		
Completa	☒	Incompleta	☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

☐	Indicación que se solicita 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 TRAZADO ☐ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado		
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud		
☐	Representación grafica de un esquema de trazado		
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas		
Completa	☐	Incompleta	☐