



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT

03-77712

21 EXPEDIENTE N°

54 TÍTULO "Derivados de caloprosodo, procedimiento para prepararlos y uso de ellos"

61 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 31/70 ; C07H 13/06.

71 SOLICITANTE Aventis Pharma Deutschland GmbH

DOMICILIO Frankfurt, Alemania

74 APODERADO Gustavo Hollmann Restrepo

22 BOGOTÁ, D C 5 de septiembre de 2003

QF

PETITORIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

03 077712 00

Radicación : 03077712 00000000

Fecha (AMB): 2003-09-05 15:15:20

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 79

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

① SOLICITUD DE :

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ Capítulo I.

☒ Capítulo II.

② SOLICITANTE (71)

Nombre: **AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH.**

Dirección: **Brüningstrasse 50,
65929 Frankfurt, Alemania**

Nacionalidad o Domicilio: **Frankfurt, Alemania**
Lugar de Constitución: **Alemania**

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③ REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO**

Dirección: **Cra. 11A No. 94-76-Of. 308**

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

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☒

Cual _____

Número **2.878.023** TP **5903**

④ INVENTOR (ES) (72)

Nombre: **EDER, Claudia**

Dirección: **F1örshelmer Strasse 7,**

Nacionalidad o Domicilio **65719 Hofheim, Alemania**

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/EP02/01916**

Fecha **Febrero 23 de 2002**

Publicación Internacional No. **WO 02/072110 A1**

Fecha **Septiembre 19 de 2002**

⑥ Título (54) **"DERIVADOS DE CALOPOROSIDO, PROCEDIMIENTO PARA PREPARARLOS Y USO DE ELLOS".**

⑦ Clasificación Internacional (51) **A 61K 31/70; C09H 13/06.**

⑧ Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

Alemania

(32) Fecha

Marzo 9, 2001

(31) Número de Solicitud

101 11 682.9

⑨ Comprobante de pago No. **60.659**

Fecha **Agosto 27, 2003**

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

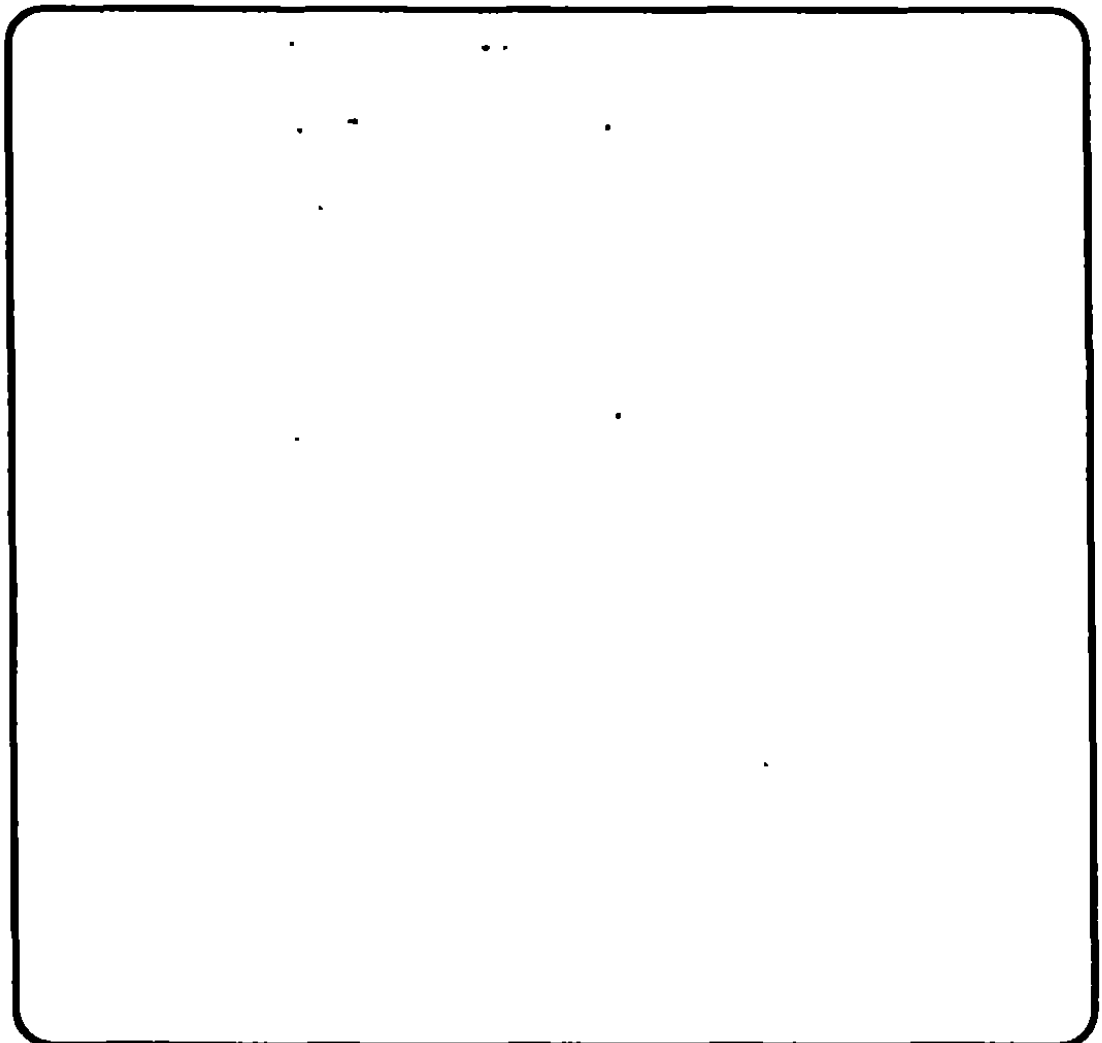
10

ANEXOS

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

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

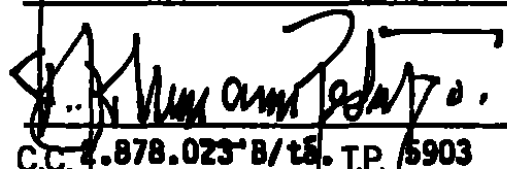


12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

FIRMA:


C.C. 7.878.023 B/15. T.P. 5903

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

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

<u>Nombre</u>	<u>Dirección</u>	<u>Domicilio</u>
KURZ, Michael	Erlenweg 7,	65719 Hofheim, Alemania
BRÖNSTRUP, Mark	Musikantenweg 16,	60316 Frankfurt, Alemania
TOTI, Luigi	Frankfurter Strasse 5,	65239 Hochheim, Alemania

Otros anexos que se acompañan a la solicitud.

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

Radicacion : 03077712 00000000
 Fecha (AMB): 2003-09-05 15:15:38
 Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACT 411 PRESENTAC
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 79

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 60,639
 FECHA : AGOSTO 27 DE 2003

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
GUSTAVO HOLLMAN	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	16345280	27/08/2003	3,585,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. CONTABILITICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	400,000.00
	TOTAL :	\$ 400,000.00

SOM: CUATROCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

G. HOLLMANN RESTREPO

ABOGADOS LTDA.

PARA PATENTES, MARCAS Y LICENCIAS FARMACEUTICAS

FOR PATENTS, TRADE MARKS AND PHARMACEUTICAL LICENSES

The undersigned

Dr. Markus Jacobi
Dr. Hans-Jürgen Fischer

acting on behalf of and representing

Company's
Name

Aventis Pharma
Deutschland GmbH

Company's
Domicile

domiciled in
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

hereby appoint/s

G. Hollmann Restrepo

Leave blank

domiciled in Bogotá, Republic of Colombia.

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

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

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

Signed in Frankfurt..am Main

On this 11th day of February 2000

(Dr. Markus Jacobi)
- Prokurist -

Signature(s)
Firma(s)

Yo(nosotros)

Dr. Markus Jacobi y
Dr. Hans-Jürgen Fischer

obrando a nombre y representación de

AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH

con domicilio en

Frankfurt am Main, Alemania

nombre(nombres) a

GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

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

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

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo, y, en general, para ante dichas autoridades tomar todas las medidas que creyeren convenientes para la defensa de mis (nuestros) intereses, con todas las facultades necesarias, y por este documento doy (damos) fe de que es válido y bueno todo cuanto los apoderados (nuestro) hicieren (nuestro beneficio).

Este poder comprende la facultad de ratificar, confirmar en mi(nuestro) nombre lo actuado, así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, sustituir y revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar abogados judiciales o extrajudiciales.

Firmado en Frankfurt am Main

el 11 de Febrero

de 2000

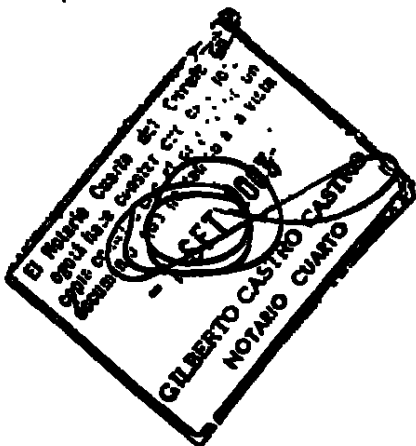
(Dr. Hans-Jürgen Fischer)
- Authorized Signatory -

COMPANIES

On this day of

BOULEVARD

de 10



No. 10 of the Urkundenrolle 2000

It is officially certified hereby that

Die umstehenden heute vor mir anerkannten Unterschriften der

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

- personally known to me - have signed this document.

- persönlich bekannt - werden hiermit beglaubigt.

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

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

Aventis Pharma Deutschland GmbH, D-65926 Frankfurt am Main

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

und der zu 2. Genannte aufgrund der vorliegenden Handlungsvollmacht vom 2. Juni 1997 handlungsbevollmächtigt und zugleich mit einem anderen Zeichnungsberechtigten der Firma zur Vertretung dieser Firma berechtigt ist.

Frankfurt am Main, den 11. Februar 2000


Notary Public
Notar

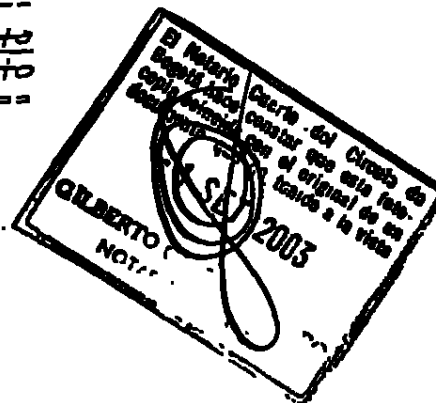


Kostenberechnung

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

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


Notar




(Dr. Markus Jacobi.) Signature(s)
- Prokurist - Firma(s)


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

Die Echtheit vorstehender Unterschrift des
Notars J. Hans Christoph Reil
und die Echtheit des beigefügten Dienst-
stempels wird hiermit bestätigt.
Eugleich wird bezeugt, daß der Vor-
genannte zur Verhandlung der Sache
befähigt war.

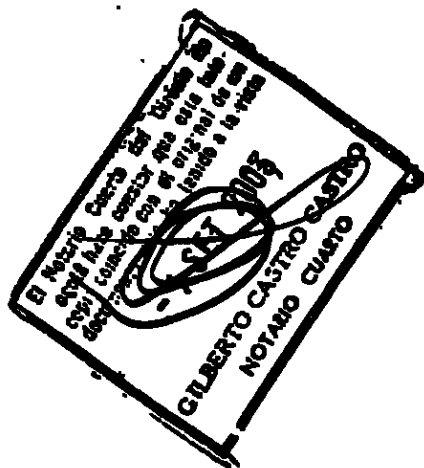
Frankfurt am Main, den 11. 7. 61

DER PRÄSIDENT DES LANDGERICHTS

In Vertretung




Schlitz





CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

Forstenberger Str. 223, 60323 Frankfurt am Main, R.F.A.
Teléfono: 49-69-5963050 * Fax: 49-69-5962080

1139

LA SUSCRITA VICE-CONSUL DE COLOMBIA EN FRANKFURT AM MAIN

CERTIFICA

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

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

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

Frankfurt am Main, Marzo 10, 2000


MARCELA RODRIGUEZ
VICE-CONSUL DE COLOMBIA

Derechos cancelados:
Impuesto de Timbre:
Fondo Rotatorio:

US\$ 7.00
US\$ 100.00



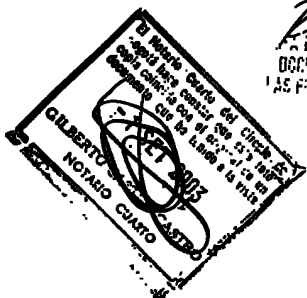
MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 MAR 21 AM 20

NET DE LEGALIZACIONES

LA FIRMA APARECE EN
DOCUMENTO DESDE
LAS FUNCIONES INDICADAS



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

Registro Notarial No. 10 para el año 2000

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

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

a quienes yo, el suscrito Notario, conozco personalmente.

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

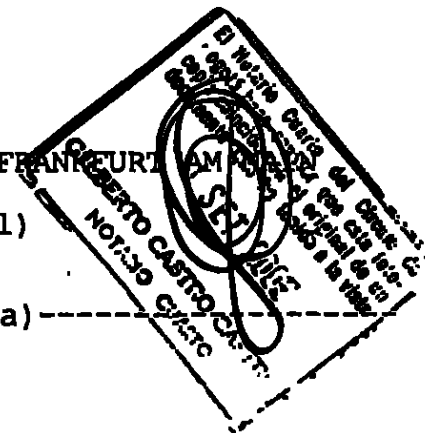
y que, de conformidad con el poder fechado el 2 de Junio de 1997 que me ha sido presentado, la persona señalada en 2. Está autorizada para representar conjuntamente con otro Apoderado a la mencionada compañía

Frankfurt am Main, 11 de Febrero del 2000

DR. HANS CHRISTOPH BEIL, NOTARIO EN FRANKFURT AM MAIN

(Firma y Sello Oficial)

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



Nota de gastos:

Valor del negocio = DM 10.000,--

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

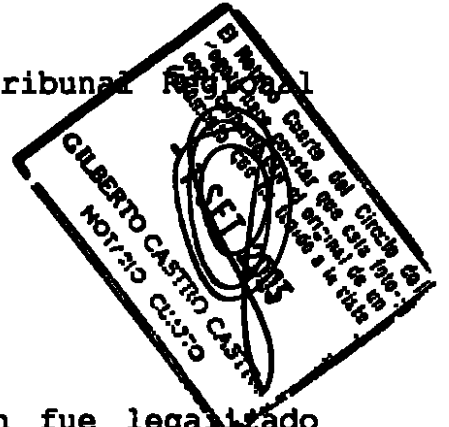
DR. HANS CHRISTOPH BEIL, NOTARIO (firma)

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

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

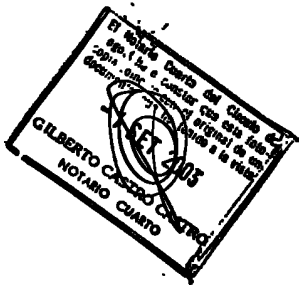
Frankfurt am Main, 17.2.2000

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



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

ADOLF WATZKE
Traductor Oficial
Res. 9433 Minjusticia



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
[Handwritten signature]
100000
[Handwritten signature]
FIRMA APARCE EN
DOCUMENTO RESERVA
LOS DICHOS INDICADOS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 MAR 23 *[Handwritten signature]*
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
19. September 2002 (19.09.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/072110 A1

(51) Internationale Patentklassifikation: A61K 31/70/
A61P 35/00, C07H 13/06, 15/18

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/01916

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Februar 2002 (23.02.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 11 682.9 9. März 2001 (09.03.2001) DE

(71) Anmelder: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND
GNBH (DE/DE): Brünigstrasse 50, 65929 Frankfurt
(DE).

(72) Erfinder: EDER, Claudia; Hirschheimer Strasse 7, 65719
Hochheim (DE); KURZ, Michael; Hirschweg 7, 65719
Hochheim (DE); BRÖNSTRUP, Mark; Musikantenweg
16, 60316 Frankfurt (DE); TOTZ, Luigi; Frankfurter
Strasse 5, 65239 Hochheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AL, AG, AI, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CO, CR,

CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

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

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 02/072110 A1

(54) Title: CALOPOROSIDE DERIVATIVES, METHODS FOR THE PRODUCTION THEREOF AND THEIR USE

(54) Bezeichnung: CALOPOROSID-DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DEREN VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to novel active substances (caloporoside derivatives), which are formed by the microorganism *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 during fermentation. The invention also relates to methods for producing said active substances, to their use as medicaments, to medicaments containing caloporoside derivatives, and to the microorganism *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 itself.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft neue Wirkstoffe (Caloporisid-Derivate), die von dem Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784. Während der Fermentation gebildet werden, Verfahren zu deren Herstellung, deren Verwendung als Arzneimittel, Caloporisid-Derivate enthaltende Arzneimittel sowie den Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784.

Caloporosid- Derivate, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Wirkstoffe (Caloporosid- Derivate), die von dem Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* Bres. ST001714, DSM 13784, während der Fermentation gebildet werden, Verfahren zu deren Herstellung, deren Verwendung als Arzneimittel, Caloporosid- Derivate enthaltende Arzneimittel sowie den Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* Bres. ST001714, DSM 13784.

Das Caloporosid wurde erstmals 1994 als Phospholipase C Inhibitor beschrieben (W. Weber et al. J. Antibiotics, 47, 1188-1194). Im gleichen Jahr wurden zwei weitere, ähnliche Sekundärmetaboliten isoliert (R. Shan et al. Nat. Prod. Lett., 4, 171-178). Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I (unten) unterscheiden sich von den dort beschriebenen Substanzen in ihrer Struktur.

Krebs ist eine zumeist tödlich verlaufende Erkrankung von Mensch und Tier, die durch das unkontrollierte Wachstum von körpereigenen Zellen verursacht wird. Krebs ist die Bezeichnung für die Bildung von bösartigen Geschwülsten (Malignome), von Neoplasmen (Tumoren bzw. Karzinome) oder für die maligne Entartung sowie Reifungsstörung weißer Blutzellen (Leukämie, Blutkrebs). Krebs- oder Tumorzellen entstehen durch Umwandlung körpereigener Zellen. Die Bösartigkeit der Krebszelle drückt sich in der Autonomie des Wachstums aus, das heißt in ihrer Fähigkeit, ungehemmt und ohne Einordnung in den Bauplan der Organe und unter Gewebszerstörung infiltrierend zu wachsen. Ein sicheres Zeichen der Malignität ist die Bildung tumorfermer Absiedlungen (Metastasen) nach hämatogener oder lymphogener Ausbreitung von Tumorzellen. Krebs gehört zu den häufigsten Todesursachen des Menschen und deshalb besteht ein großer Bedarf an Methoden und Mitteln zur Heilung oder Behandlung von malignen Entartungen.

Die Möglichkeit einer Therapie maligner Tumoren umfaßt neben der – wenn möglich radikalen – operativen Entfernung des Tumors, die radiologische Therapie mit Röntgenstrahlen, α -, β -, γ -Strahlen, die Immuntherapie und die Chemotherapie. Die Immuntherapie ist derzeit nur in eingeschränktem Maß anwendbar. Unter der

Chemotherapie von Tumoren versteht man die Gabe von Zellgiften (Zytostatika) zur Behandlung von Tumoren und von verbliebenen Tumorzellen nach lokaler chirurgischer Behandlung oder Bestrahlung. Diese Stoffe greifen spezifisch in bestimmte Vorgänge der Zellteilung ein, so daß Gewebe mit hohem Anteil an sich teilenden Zellen, wie das rasch wachsende Tumorgewebe, empfindlicher reagieren. Zum Einsatz kommen alkylierende Verbindungen, wie z. B. das Cyclophosphamid (The Merck Index, 12. Ed. Seite 463), Antimetabolite, wie das Methotrexat (The Merck Index, 12. Ed. Seite 1025), Alkaloide, wie das Vincristin (The Merck Index, 12. Ed. Seite 1704) und Antibiotika, wie das Daunomycin (The Merck Index, 12. Ed. Seite 479) sowie das Adriamycin (The Merck Index, 12. Ed. Seite 581-582). All diese Agenzien haben aber aufgrund von massiven Nebenwirkungen große Nachteile, so daß der Tod der Erkrankten nur hinausgezögert, nicht jedoch abgewendet wird. Zudem treten bei entarteten (Krebs-) Zellen Resistenzen gegen die angewandten Mittel auf. Die derzeitigen Medikamente wirken dann nicht mehr zytostatisch, wohl aber toxisch infolge der Nebenwirkungen. Zudem hat sich gezeigt, daß eine kombinierte bzw. sequentielle Anwendung von Zytostatika die Wirksamkeit eines einzelnen Zytostatikums (Monotherapie) übertrifft und es dadurch möglich ist, daß sich die erheblichen Nebeneffekte bei der Polychemotherapie nicht addieren. Aus all diesen Gründen werden neue Chemotherapeutika dringend benötigt und deshalb weltweit gesucht.

Cyclin-abhängige Kinasen (cyclin-dependent kinases = CDKs) spielen eine zentrale Rolle bei der Regulation des Zellzykluses. Sie katalysieren Phosphorylierungsreaktionen und setzen damit eine Reaktionskaskade in Gang, die im Zellzyklus einen Übergang von der G1-Phase (Wachstumsphase 1) in die S-Phase (Synthesephase) initiiert. Cyclin-abhängige Kinasen stellen daher ein gutes therapeutisches Target für die Behandlung von Krebs und anderen Erkrankungen mit einer pathologischen Störung der Zellproliferation dar. Niedermolekulare Inhibitoren, die den Zellzyklus regulieren und unkontrollierte Zellteilung verhindern, wären hilfreiche Arzneistoffe bei der Behandlung von Krebspatienten.

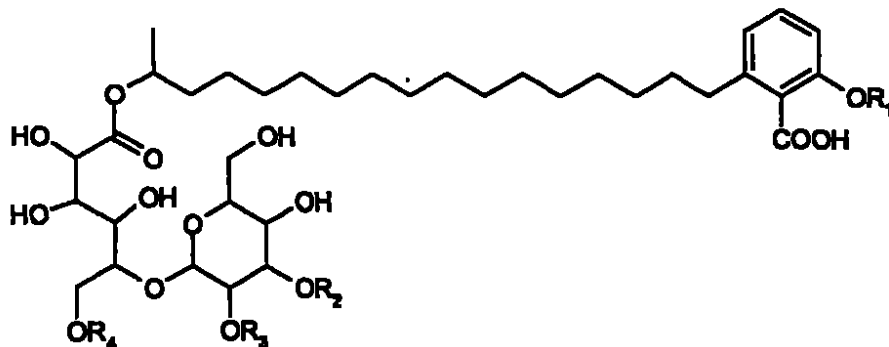
Es ist überraschend gefunden worden, daß der Mikroorganismus-Stamm *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784, hoch wirksame neue Zytostatika zu bilden vermag, die cyclin-abhängige Kinasen in sehr geringen Konzentrationen hemmen.

5

Gegenstand der Erfindung sind demzufolge die von dem Stamm *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784 gebildeten Wirkstoffe (Caloporosid-Derivate) sowie deren physiologisch verträglichen Salze, Ester und offensichtliche chemische Äquivalente.

10

Die Erfindung betrifft somit Verbindungen der allgemeinen Formel I



wobei bedeuten

15 R_1 , R_2 und R_3 , unabhängig voneinander, H oder ein Acylrest mit 2-10 C-Atomen, vorzugsweise 2 bis 6 Atomen, besonders bevorzugt 2 Atomen; und

R_4 H oder $-C(O)(CH_2)_n COOH$, worin n gleich 1 bis 7 ist, vorzugsweise 1 bis 3, besonders bevorzugt 1 oder 2;

20

mit der Ausnahme daß R_1 , R_2 , R_3 und R_4 nicht alle H bedeuten;

sowie deren physiologisch verträglichen Salze.

Die Acylreste der Verbindungen der Formel I können geradkettig oder verzweigt, gesättigt oder einfach oder zweifach ungesättigt sein.

Unter einem Acylrest mit 2 C-Atomen ist beispielsweise ein Acetylrest zu verstehen.

5

Beispiele für gesättigte, unverzweigte Acylreste sind ein Essigsäurerest (C=2), Propionsäurerest (C=3), Buttersäurerest (C=4), Valeriansäurerest (C=5), Capronsäurerest (C=6), Önanthsäurerest (C=7), Caprylsäurerest (C=8), Perlagonsäurerest (C=9) und Caprinsäurerest (C=10).

10

Beispiele für einfach ungesättigte, unverzweigte Acylreste sind ein Acrylsäurerest (C=3), Crotonsäurerest (C=4) oder ein Vinylessigsäurerest (C=4).

15

Ein Beispiel für zweifach ungesättigte, unverzweigte Acylrest ist ein Sorbinsäurerest (C=6).

20

Die Caloporoside sind schwach wirksame Antibiotika, die aus einer Salicylsäure und einem Disaccharid bestehen. Die beiden Struktureinheiten sind über eine Alkylkette verbunden. Der Zuckerteil der Verbindung der Formel I kann ein Disaccharid sein, bestehend jeweils aus einer D-Pyranose einer Aldohehexose (wie z.B. D-Glucopyranose oder D-Galaktopyranose) und der ONSäure einer Aldohehexose (z.B. D-Gluconsäure). Bevorzugt ist der Zuckerteil D-Mannopyranosyl-D-mannonsäure die unsubstituiert oder substituiert ist durch R_2 , R_3 und/oder R_4 wie oben definiert.

25 Die Erfindung betrifft des weiteren

a) eine Verbindung der Formel I wobei R_1 = Acetyl; R_2 = R_3 = R_4 = H (=Caloporosid B: Summenformel: $C_{38}H_{62}O_{16}$, MG 774,9) sowie deren physiologisch verträglichen Salze;

30

b) eine Verbindung der Formel I wobei $R_1 = R_3 = \text{Acetyl}$; $R_2 = \text{H}$; $R_4 = \text{Malonyl}$
(=Caloporosid C: Summenformel: $\text{C}_{43}\text{H}_{88}\text{O}_{20}$, MG 902,99) sowie deren
physiologisch verträglichen Salze;

5 c) eine Verbindung der Formel I wobei $R_1 = R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{Acetyl}$; $R_4 = \text{Malonyl}$
(=Caloporosid D: Summenformel: $\text{C}_{41}\text{H}_{84}\text{O}_{18}$, MG 806,96) sowie deren
physiologisch verträglichen Salze;

10 d) eine Verbindung der Formel I wobei $R_1 = R_3 = \text{H}$; $R_2 = \text{Acetyl}$; $R_4 = \text{Malonyl}$
(=Caloporosid E: Summenformel: $\text{C}_{41}\text{H}_{84}\text{O}_{18}$, MG 806,96) sowie deren
physiologisch verträglichen Salze;

15 e) eine Verbindung der Formel I wobei $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}$; $R_3 = \text{Acetyl}$
(=Caloporosid F: Summenformel: $\text{C}_{38}\text{H}_{82}\text{O}_{16}$, MG 774,9) sowie deren physiologisch
verträglichen Salze.

20 Chiralitätszentren in den Verbindungen der Formel I können, wenn nicht anders
angegeben, in der R- oder in der S-Konfiguration vorliegen. Die Erfindung betrifft
sowohl die optisch reinen Verbindungen als auch Stereoisomerengemische wie
Enantiomerengemische und Diastomerengemische.

Erfindungsgemäß sind die Verbindungen der Formel I erhältlich durch Fermentation
von *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, oder eines seiner
Varianten oder Mutanten unter geeigneten Bedingungen in einem Kulturmedium, bis
25 sich eines oder mehrere der Caloporosid-Derivate der Formel I im Kulturmedium
anhäufen. Durch anschließende Isolierung der Verbindungen und gegebenenfalls
Umwandlung in chemische Äquivalente, sowie deren physiologisch verträglichen
Salze werden die Caloporosid-Derivate gewonnen.

30 Die Erfindung betrifft daher weiterhin ein Verfahren zur Herstellung einer Verbindung
der Formel I, dadurch gekennzeichnet, daß der Mikroorganismus *Gloeoporus*
dichrous (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 oder einer seiner Varianten oder

Mutanten unter geeigneten Bedingungen in einem Kulturmedium fermentiert wird, bis sich eine oder mehrere der Zielverbindungen in dem Kulturmedium anhäufen und anschließend aus dem Kulturmedium isoliert und gegebenenfalls in chemische Äquivalente und /oder physiologisch verträgliche Salze umgewandelt werden.

5

Vorzugsweise wird der Stamm ST001714, DSM 13784, seine Mutanten und/oder Varianten in einer Nährlösung oder einem Festmedium (auch als Kulturmedium bezeichnet) mit Kohlenstoff- und Stickstoffquelle sowie den üblichen anorganischen Salzen fermentiert, bis sich die erfindungsgemäßen Verbindungen in dem Kulturmedium anhäufen, anschließend werden die Verbindungen aus dem Kulturmedium isoliert und gegebenenfalls in die einzelnen aktiven Komponenten aufgetrennt.

10

Das erfindungsgemäße Verfahren kann für die Fermentation im Labormaßstab (Milliliter- bis Literbereich) und für den industriellen Maßstab (Kubikmetermaßstab) eingesetzt werden.

15

Der Stamm *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST 001714, wurde in einer Vorkultur vermehrt. Ein Isolat wurde bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1B, 3300 Braunschweig, Deutschland, nach den Regeln des Budapester Vertrages am 14. Dezember 1999 unter der folgenden Nummer hinterlegt: DSM 13784.

20

Gloeoporus dichrous (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, besitzt ein weißes Mycel und purpurfarbige Sporen. Er kommt vorzugsweise auf *Betula* vor, kann aber auch andere Wirte zum Beispiel *Alnus*, *Salix*, *Populus*, *Ulmus*, *Prunus* befallen.

25

Anstelle des Stammes *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, können auch dessen Mutanten und Varianten eingesetzt werden, die ein oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen synthetisieren. Solche Mutanten können in an sich bekannter Weise durch physikalische Mittel, beispielsweise Bestrahlung, wie mit Ultraviolett- oder Röntgenstrahlen, oder chemische Mutagene,

30

wie beispielsweise Ethylmethansulfonat (EMS), 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon (MOB) oder N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) erzeugt werden.

Das Screening nach Mutanten und Varianten, die ein oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen synthetisieren, erfolgt nach folgendem Schema:

- Lyophilisierung der Plattenkulturen;
- Extraktion des Lyophilisats mit einem organische Lösungsmittel;
- Extraktion der Verbindung aus dem Kulturfiltrat mit Festphasen
- Analytik mittels HPLC, DC oder durch Testen der biologischen Wirksamkeit.

Die im folgenden beschriebenen Fermentationsbedingungen gelten für *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, das hinterlegte Isolat DSM 13784 sowie Mutanten und Varianten von diesen.

In einer Nährlösung, die eine Kohlenstoffquelle und eine Stickstoffquelle sowie die üblichen anorganischen Salze enthält, produziert *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, die Caloporosid- Derivate.

Als bevorzugte Kohlenstoffquellen für die Fermentation eignen sich assimilierbare Kohlenhydrate und Zuckeralkohole, wie Glukose, Laktose, Saccharose oder D-Mannit sowie kohlenhydrathaltige Naturprodukte, wie z.B. Malzextrakt. Als stickstoffhaltige Nährstoffe kommen in Betracht: Aminosäuren, Peptide und Proteine sowie deren Abbauprodukte, wie Casein, Peptone oder Tryptone, ferner Fleischextrakte, Hefeextrakte, gemahlene Samen, beispielsweise von Mais, Weizen, Bohnen, Soja oder der Baumwollpflanze, Destillationsrückstände der Alkoholherstellung, Fleischmehle oder Hefeextrakte, aber auch Ammoniumsalze und Nitrate, insbesondere aber auch synthetisch bzw. biosynthetisch gewonnene Peptide. An anorganischen Salzen kann die Nährlösung beispielsweise Chloride, Carbonate, Sulfate oder Phosphate der Alkali- oder Erdalkalimetalle, Eisen, Zink, Kobalt und Mangan enthalten.

Die Bildung der erfindungsgemäßen Verbindungen verläuft besonders gut in einer Nährlösung, die etwa 0,05 bis 5 %, bevorzugt 1 bis 2 % Malzextrakt, 0,05 bis 3 %, 10

bevorzugt 0.05 bis 1 % Hefeextrakt und 0,2 bis 5 %, bevorzugt 0,5 bis 2 % Glucose, 0,5 bis 3 %, bevorzugt 0,5 bis 3 % Cellulose Pulver und Spuren von Ammoniumsulfat enthalten. Die Angaben in Prozent sind jeweils bezogen auf das Gewicht der gesamten Nährlösung.

5

In dieser Nährlösung bildet *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres *ST001714*, DSM 13784, ein Gemisch aus Caloporosid-Derivaten. Je nach Zusammensetzung der Nährlösung kann der mengenmäßige Anteil eines oder mehrerer der

erfindungsgemäßen Caloporosid- Derivate variieren. Außerdem kann durch die

Medienzusammensetzung die Synthese einzelner Caloporosid- Derivate gesteuert werden, so daß ein Caloporosid- Derivat gar nicht bzw. in einer Menge unterhalb der Nachweisgrenze vom Mikroorganismus hergestellt wird.

Die Kultivierung des Mikroorganismus erfolgt aerob, also beispielsweise submers unter Schütteln oder Rühren in Schüttelkolben oder Fermentern gegebenenfalls unter Einführen von Luft oder Sauerstoff, oder auf Festmedium. Sie kann in einem Temperaturbereich von etwa 18 bis 35°C, vorzugsweise bei etwa 20 bis 30°C, insbesondere bei 25 bis 30°C durchgeführt werden. Der pH-Bereich sollte zwischen 5 und 8 liegen, vorzugsweise zwischen 5,5 und 6,5. Man kultiviert den Mikroorganismus unter diesen Bedingungen im allgemeinen über einen Zeitraum von 24 bis 720 Stunden, vorzugsweise 288 bis 576 Stunden.

Vorteilhaft kultiviert man in mehreren Stufen, d. h. man stellt zunächst eine oder mehrere Vorkulturen in einem flüssigen Nährmedium her, die dann in das eigentliche Produktionsmedium, die Hauptkultur, beispielsweise im Volumenverhältnis 1:10, überimpft werden. Die Vorkultur erhält man, z.B., indem man ein Mycel in eine Nährlösung überimpft und etwa 36 bis 120 Stunden, bevorzugt 48 bis 72 Stunden, wachsen läßt. Das Mycel kann beispielsweise erhalten werden, indem man den Stamm etwa 3 bis 40 Tage, bevorzugt 10 bis 30 Tage, auf einem festen oder flüssigen Nährboden, beispielsweise Malz-Hefe-Agar oder Kartoffel-Dextrose-Agar wachsen läßt.

Der Fermentationsverlauf kann anhand des pH-Wertes der Kulturen oder des Mycelvolumens sowie durch chromatographische Methoden, wie z.B. Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC), oder Ausprüfen der biologischen Aktivität überwacht werden.

5

Das im folgenden beschriebene Isolierungsverfahren dient zur Aufreinigung der erfindungsgemäßen Caloporosid- Derivate.

10

Die Isolierung bzw. Aufreinigung eines erfindungsgemäßen Caloporosid- Derivates aus dem Kulturmedium erfolgt nach bekannten Methoden unter Berücksichtigung der chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften der Naturstoffe. Zum Testen der Konzentration der jeweiligen Caloporosid- Derivate im Kulturmedium oder in den einzelnen Isolierungsstufen kann die HPLC verwendet werden, wobei die Menge der gebildeten Substanz zweckmäßig mit einer Eichlösung verglichen wird.

15

20

Zur Isolierung der erfindungsgemäßen Verbindungen werden die Kulturbrühe oder die Kultur samt Festmedium lyophilisiert, anschließend werden die Caloporosid- Derivate vom Lyophilisat mit einem gegebenenfalls mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel extrahiert. Die organische Lösungsmittelphase enthält die erfindungsgemäßen Naturstoffe, sie wird gegebenenfalls im Vakuum konzentriert und weiter aufgereinigt.

25

Die weitere Aufreinigung eines oder mehrerer erfindungsgemäßen Verbindungen erfolgt durch Chromatographie an geeigneten Materialien, vorzugsweise z.B. an Molekularsieben, an Kieselgel, Aluminiumoxid, an Ionenaustauschern oder an Adsorberharzen bzw. an Umkehr-Phasen (reversed phase, RP). Mit Hilfe dieser Chromatographie werden die Caloporosid- Derivate getrennt. Die Chromatographie der Caloporosid- Derivate erfolgt mit gepufferten wässrigen Lösungen oder Gemischen von wässrigen und organischen Lösungen.

30

Unter Gemischen von wässrigen oder organischen Lösungen versteht man alle mit Wasser mischbaren organischen Lösemittel, vorzugsweise Methanol, Propanol und

Acetonitril, in einer Konzentration von 5 bis 80 % Lösemittel, vorzugsweise 20 bis 50 % Lösemittel oder auch alle gepufferten wässrigen Lösungen, die mit organischen Lösemitteln mischbar sind. Die zu verwendenden Puffer sind die gleichen wie oben angegeben.

5

Die Trennung der Caloporosid- Derivate aufgrund ihrer unterschiedlichen Polarität erfolgt mit Hilfe der Reversed Phase Chromatographie, beispielsweise an MCI® (Adsorberharz von Mitsubishi, Japan) oder Amberlite XAD® (TOSHAAS), an weiteren hydrophoben Materialien, wie zum Beispiel an RP-8- oder RP-18-Phasen.

10 Außerdem kann die Trennung mit Hilfe der Normalphasen-Chromatographie, zum Beispiel an Kieselgel, Aluminiumoxyd und ähnlichen erfolgen.

Die Chromatographie der Caloporosid- Derivate erfolgt mit gepufferten oder angesäuerten wässrigen Lösungen oder Gemischen von wässrigen Lösungen mit
15 Alkoholen oder anderen, mit Wasser mischbaren organischen Lösemitteln. Als organisches Lösemittel wird vorzugsweise Propanol und Acetonitril verwendet.

Unter gepufferten oder angesäuerten wässrigen Lösungen versteht man z.B. Wasser, Phosphatpuffer, Ammoniumacetat, Citratpuffer in einer Konzentration von 0 bis 0,5 M
20 sowie Ameisensäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure oder allen handelsüblichen, dem Fachmann bekannten Säuren, vorzugsweise in einer Konzentration von 0 bis 1 %. Bei gepufferten wässrigen Lösungen wird 0,1 % Ammoniumacetat besonders bevorzugt

Chromatographiert wird mit einem Gradienten, der mit 100 % Wasser beginnt und mit
25 100 % Lösemittel endet, vorzugsweise wird ein linearer Gradient von 20 bis 100 % Propanol oder Acetonitril gefahren.

Alternativ kann auch eine Gelchromatographie oder die Chromatographie an hydrophoben Phasen erfolgen.

30

Die Gelchromatographie wird an Polyacrylamid- oder Mischpolymergelen durchgeführt, wie z.B. Biogel-P 2® (Fa. Biorad) oder Fractogel TSK HW 40® (Fa. Merck, Deutschland oder Toso Haas, USA).

- 5 Die Reihenfolge der vorgenannten Chromatographien ist umkehrbar.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind im festen Zustand und in Lösungen im pH-Bereich zwischen 3 und 8, insbesondere 5 und 7, stabil und lassen sich damit in übliche galenische Zubereitungen einarbeiten.

- 10 Eine oder mehrere Verbindungen der erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich aufgrund ihrer wertvollen pharmakologischen Eigenschaften zur Anwendung in der Human- oder Tiermedizin als Arzneimittel.

- 15 Die vorliegende Erfindung betrifft somit die Verwendung der Verbindung der Formel I oder ein physiologisch verträgliches Salz desselben zur Herstellung eines Zytostatikums zur Behandlung von Tumorerkrankungen.

- 20 Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin alle offensichtlichen chemischen Äquivalenten der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I. Solche Äquivalente sind Verbindungen, die einen geringfügigen chemischen Unterschied aufweisen, also die gleiche Wirkung haben oder sich unter milden Bedingungen in die erfindungsgemäßen Verbindungen umwandeln. Zu den genannten Äquivalenten gehören z.B. auch Salze, Reduktionsprodukte, Ester, Ether, Acetale oder Amide der
25 erfindungsgemäßen Verbindungen sowie Äquivalente die der Fachmann mit Standardmethoden herstellen kann, darüber hinaus alle optische Antipoden, Diastereomere und alle stereomere Formen.

- 30 Unter physiologisch verträglichen Salzen von Verbindungen der Formel I versteht man sowohl deren organische als auch anorganische Salze, wie sie in Remington's Pharmaceutical Sciences (17. Auflage, Seite 1418 (1985)) beschrieben sind. Aufgrund der physikalischen und chemischen Stabilität und der

Löslichkeit sind für saure Gruppen unter anderem Natrium-, Kalium-, Calcium- und Ammoniumsalze bevorzugt; für basische Gruppen sind unter anderem Salze der Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure oder von Carbonsäuren oder Sulfonsäuren, wie z.B. Essigsäure, Zitronensäure, Benzoesäure, Maleinsäure, 5 Fumarsäure, Weinsäure und p-Toluolsulfonsäure bevorzugt.

Ester, Ether und Acetale können nach literaturbeschriebenen Methoden hergestellt werden, z.B. in Advanced Organic Synthesis, 4th Edition, J. March, John Wiley & Sons, 1992 oder Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edition, T. W. Greene & P. G. M. Wuts, John Wiley & Sons, 1999.

Die Carboxylgruppe kann beispielsweise mit LiAlH_4 zum Alkohol reduziert werden.

15 Von Verbindungen der Formel I kann zunächst der Glykosidteil mittels alkalischer Hydrolyse abgespalten werden (W. Weber et al. J. Antibiotics, 47, 1188-1194). Anschließend können durch Glykosylierung (z.B. Königs-Knorr-Reaktion) beliebige Zuckerreste eingeführt werden. Entsprechende Methoden sind literaturbeschrieben z.B. in Carbohydrate Chemistry, J. F. Kennedy, Oxford University Press, 1988.

20 Der Wirkmechanismus der Caloporosid- Derivate ist unbekannt, jedoch konnte ein signifikanter Effekt nachgewiesen werden.

Zum Nachweis der Inhibitoren von CDKs bedient man sich eines Testes, bei dem die Phosphorylierungsrate eines spezifischen Peptidsubstrates durch die cyclin- 25 abhängigen Kinasen gemessen wird. Die cyclin-abhängigen Kinasen werden durch Bindung an das jeweilige Cyclin aktiviert. $[\gamma\text{-P}]$ -Phosphat wird von $[\gamma\text{-P}]$ -ATP durch das Enzym auf das Peptidsubstrat übertragen. Der Test wird in 96-well Mikrotiterplatten durchgeführt. Gemessen wird die Radioaktivität des auf das Substrat übertragenen $[\gamma\text{-P}]$ -Phosphats.

IC₅₀ Werte für die Caloporosid- Derivate sind in der Tabelle 1 angegeben; es ist die Konzentration, die CDK-4 zu 50 % inaktiviert.

Caloporoside B	1,5 µM
Caloporoside C	3,1 µM
Caloporoside D	1,8 µM
Caloporoside E	1,8 µM
Caloporoside F	1,5 µM

5 Des weiteren betrifft die vorliegende Erfindung Arzneimittel mit einem Gehalt an mindestens einer erfindungsgemäßen Verbindung.

Ein oder mehrere Verbindungen der erfindungsgemäßen Caloporosid- Derivate können grundsätzlich als solche in Substanz verabreicht werden. Bevorzugt ist die
10 Verwendung in Mischung mit geeigneten Hilfsstoffen oder Trägermaterial. Als Trägermaterial können bei Arzneimitteln die üblichen und pharmakologisch verträglichen Trägermaterialien und/oder Hilfsstoffe verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel werden im allgemeinen oral oder parenteral
15 verabreicht, aber auch eine rektale Anwendung ist prinzipiell möglich. Geeignete feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Tabletten, Dragees, (Mikro-)Kapseln, Zäpfchen, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen, Aerosole, Tropfen oder injizierbare Lösungen in Ampullenform sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung üblicherweise Trägerstoffe und
20 Zusätze und/oder Hilfsmittel wie Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel oder Lösungsvermittler Verwendung finden. Als häufig verwendete Träger- oder Hilfsstoffe seien z.B. Magnesiumcarbonat, Titandioxid, Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Vitamine, Cellulose und ihre Derivate, tierische oder pflanzliche Öle,
25 Polyethylenglykole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser, Alkohole, Glycerin und mehrwertige Alkohole genannt.

Gegebenenfalls können die Dosierungseinheiten für die orale Verabreichung mikroverkapselt werden, um die Abgabe zu verzögern oder über einen längeren Zeitraum auszudehnen, wie beispielsweise durch Überziehen oder Einbetten des Wirkstoffs in Teilchenform in geeignete Polymere, Wachse oder dergleichen.

5 Vorzugsweise werden die pharmazeutischen Präparate in Dosierungseinheiten hergestellt und verabreicht, wobei jede Einheit als aktiven Bestandteil eine bestimmte Dosis einer oder mehrerer Verbindungen der erfindungsgemäßen Caloporosid-Derivate enthält. Bei festen Dosierungseinheiten wie Tabletten, Kapseln und
10 Suppositorien kann diese Dosis bis zu etwa 500 mg, bevorzugt jedoch etwa 0,1 bis 200 mg, und bei Injektionslösungen in Ampullenform bis zu etwa 200 mg, vorzugsweise aber etwa 0,5 bis 100 mg, pro Tag betragen.

Die zu verabreichende Tagesdosis ist abhängig vom Körpergewicht, Alter, Geschlecht
15 und Zustand des Säugers. Unter Umständen können jedoch auch höhere oder niedrigere Tagesdosen angebracht sein. Die Verabreichung der Tagesdosis kann sowohl durch Einmalgabe in Form einer einzelnen Dosierungseinheit oder aber in mehreren kleineren Dosierungseinheiten als auch durch Mehrfachgabe unterteilter Dosen in bestimmten Intervallen erfolgen.

20 Die erfindungsgemäßen Arzneimittel werden dadurch hergestellt, daß man ein oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen mit üblichen Träger- sowie gegebenenfalls Zusatz- und/oder Hilfsstoffe in die bzw. eine geeignete Darreichungsform bringt.

25 In den sich anschließenden Beispielen wird die Erfindung weiter erläutert. Prozentangaben beziehen sich auf das Gewicht. Mischungsverhältnisse bei Flüssigkeiten beziehen sich auf das Volumen, wenn keine anderen Angaben gemacht wurden.

Beispiele

Beispiel 1: Herstellung einer Glycerinkultur von *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784

5

100 ml Nährlösung (Malzextrakt 2,0%, Hefeextrakt 0,2 %, Glukose 1,0 % $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ 0,05 %, pH 6,0) in einem sterilen 300 ml Erlenmeyerkolben werden mit dem Stamm *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 und 7 Tage bei 25° C und 140 UpM auf einer rotierenden Schüttelmaschine inkubiert. 1,5 ml dieser Kultur werden anschließend mit 2,5 ml 80 %igem Glycerin verdünnt und bei -135° C gelagert.

Beispiel 2: Herstellung einer Vorkultur im Erlenmeyerkolben von *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784.

15 30 ml Nährlösung (Malzextrakt 2,0%, Hefeextrakt 0,2 %, Glukose 1,0 % $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ 0,05 %, pH 6,0) in einem sterilen 100 ml Erlenmeyerkolben werden mit dem Stamm *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, beimpft und 4 Tage bei 25° C und 140 UpM auf einer rotierenden Schüttelmaschine inkubiert. Mit jeweils 2 ml dieser Vorkultur werden anschließend die Platten bei der Herstellung der Hauptkulturen beimpft.

Beispiel 3: Herstellung einer Hauptkultur von *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 auf Festmedium-Platten.

25 Sterile 25x25 cm Platten (Fa. Nunc) werden mit 200 ml der folgende Nährlösung 20 g/l Malzextrakt, 2 g/l Hefeextrakt, 10 g/l Glukose, und 0.5 g/l $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ pH 6.0 gegossen. Diese Platten wurden jeweils mit 2 ml einer Vorkultur beimpft. Die maximale Produktion einer oder mehrerer der erfindungsgemäßen Verbindungen ist nach ca. 480 Stunden erreicht.

30

Beispiel 4: Herstellung der Caloporosid- Derivate

50 Stück 25x25 cm Platten wurden hergestellt und mit der Vorkultur beimpft:

Nährmedium:

20 g/l Malzextrakt

5 2 g/l Hefeextrakt

10 g/l Glukose

0.5 g/l $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$

pH 6 (vor der Sterilisation)

Inkubationszeit: 480 Stunden

10 Inkubationstemperatur: 25° C

Beispiel 5: Isolierung des Caloporosid-Gemisches aus den Plattenkulturen von *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784.

- 15 Nach Beendigung der Fermentation von *Gloeoporus dichrous* (Fr. : Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, werden die Plattenkulturen, gewonnen nach Beispiel 3, lyophilisiert und das Lyophilisat mit 5 Liter Methanol extrahiert. Die wirkstoffhaltige, methanolische Lösung wird durch Filtration vom Rückstand befreit und im Vakuum konzentriert. Das Konzentrat wird mit Wasser verdünnt und auf eine vorbereitete, 1,0
- 20 Liter MCI GEL, CHP20P-Säule aufgetragen. Eluiert wird mit einem Gradienten von Wasser nach 100% Acetonitril. Der Säulendurchfluß (25 ml pro Minute) wird fraktioniert aufgefangen (je 25 ml) und die Caloporosid- Derivate enthaltenden Fraktionen (von 40% bis 100 % Acetonitril) zusammengefaßt. Konzentrieren im Vakuum und anschließende Lyophilisierung ergeben 8,5 g eines gelbbraunen Pulvers.

25 Beispiel 6: Vortrennung der Caloporosid- Derivate durch RP18-Chromatographie.

- 0,5 g des nach Beispiel 4 gewonnenen Produktes werden auf eine Nucleosil® 100-7 C18 HD Säule (Größe: 40 mm x 250 mm) aufgetragen. Eluiert wird mit einem
- 30 Gradienten von 20 % Acetonitril (+ Wasser mit 0,1 % Ammoniumacetat-Zusatz) nach 100% Acetonitril mit einer Flußrate von 35 ml pro Minute. Der Säulenausfluß wird fraktioniert (35 ml) aufgefangen. Hauptsächlich in den Fraktionen 39 bis 68 befinden

sich die Caloporosid- Derivate. Sie werden zusammengefaßt, im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und anschließend lyophilisiert. Dabei wurden Caloporosid B (22,4 mg) und F (10,5 mg) bereits > 95 % rein erhalten. Caloporosid C (Fraktion 41; 43,4 mg), D (Fraktion 43-45; 76,2 mg) und E (Fraktion 43-45; 76,2 mg) wurden zu ca. 70% rein erhalten und daher noch weiter chromatographisch aufgereinigt.

Beispiel 7: Reinigung der Caloporoside C, D und E.

20 mg des nach Beispiel 5 isolierten und angereicherten Caloporosids C werden auf eine LUNA® 5µ C18(2) Säule (Größe: 10 mm x 250 mm) aufgetragen und mit einem Gradienten von 25 bis 35 % Acetonitril in 0,1 % Ammoniumacetat/Wasser chromatographiert. Der Durchfluß des Elutionsmittels beträgt 6,5 ml pro Minute, die Fraktionsgröße 6,5 ml. In den Fraktionen 35 bis 42 befindet sich das Caloporosid C. Die Lyophilisierung der genannten Fraktionen ergibt > 95 % reines Caloporosid C (7,5 mg)

25 mg des nach Beispiel 5 isolierten und angereicherten Gemisches aus Caloporosid D und E werden auf eine LUNA® 5µ C18(2) Säule (Größe: 10 mm x 250 mm) aufgetragen und mit einem Gradienten von 30 bis 40 % Acetonitril in 0,1 % Ammoniumacetat/Wasser chromatographiert. Der Durchfluß des Elutionsmittels beträgt 6,5 ml pro Minute, die Fraktionsgröße 6,5 ml. In den Fraktionen 18 und 19 befindet sich das Caloporosid D, in den Fraktionen 20 bis 21 Caloporosid E. Die Lyophilisierung der genannten Fraktionen ergibt > 95 % reines Caloporosid D (7,0 mg) und Caloporosid E (6,0 mg).

Die physikalisch-chemischen sowie spektroskopischen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Substanzen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Caloporosid B:

Summenformel: $C_{38}H_{62}O_{16}$
 Molekulargewicht: 774,9
 UV-Maxima: 208, 244, 310

¹H- und ¹³C-NMR: siehe Tabelle 2

Das hochauflösende FAB Massenspektrum zeigt ein intensives MH⁺ bei m/z 775.4120 Da, in guter Übereinstimmung mit der berechneten Masse (für C₃₈H₈₃O₁₆, mono-isotopisch) von 775.4116 Da.

Caloporosid C:

Summenformel: C₄₃H₈₈O₂₀

10 Molekulargewicht: 902,99

UV-Maxima: 208, 244, 310

¹H- und ¹³C-NMR: siehe Tabelle 3

Das hochauflösende FAB Massenspektrum zeigt ein intensives M+H⁺ bei m/z 903.4264 Da, in guter Übereinstimmung mit der berechneten Masse (für C₃₈H₇₁O₂₅, mono-isotopisch) von 903.4284 Da.

Caloporosid D:

20 Summenformel: C₄₁H₈₄O₁₉

Molekulargewicht: 860.96

UV-Maxima: 208, 244, 310

¹H- und ¹³C-NMR: siehe Tabelle 4

25 Das hochauflösende FAB Massenspektrum zeigt ein intensives M+Na⁺ bei m/z 883.3942 Da, in guter Übereinstimmung mit der berechneten Masse (für C₄₁H₈₄O₁₉Na, mono-isotopisch) von 883.3939 Da.

Caloporosid E:

30 Summenformel: C₄₁H₈₄O₁₉

Molekulargewicht: 860.96

UV-Maxima: 208, 244, 310

¹H- und ¹³C-NMR: siehe Tabelle 4

Das hochauflösende FAB Massenspektrum zeigt ein intensives M+Na⁺ bei m/z 883.3942 Da, in guter Übereinstimmung mit der berechneten Masse (für C₄₁H₆₄O₁₉Na, mono-isotopisch) von 883.3939 Da.

Caloporosid F:

Summenformel: C₃₈H₆₂O₁₆

10 Molekulargewicht: 774.9

UV-Maxima: 208, 244, 310

¹H- und ¹³C-NMR: siehe Tabelle 5

Das hochauflösende FAB Massenspektrum zeigt ein intensives M+H⁺ bei m/z 775.4128 Da, in guter Übereinstimmung mit der berechneten Masse (für C₃₈H₆₃O₁₆, mono-isotopisch) von 775.4116 Da.

Tabelle 2: ^1H - und ^{13}C -chemische Verschiebungen von Caloporosid B in Methanol- d_4 und DMSO- d_6 bei 300K

	DMSO	MeOD	DMSO	MeOD
1	-	-	171.24	a)
2	-	-	a)	a)
3	-	-	162.22	163.57
4	6.68	6.77	115.28	116.81
5	7.17	7.25	~131.6	b
6	6.57	6.67	121.02	~123.0
7	-	-	137.90	139.57
8	a)	a)	a)	a)
9	a)	a)	a)	a)
10-20	1.30-1.20	1.32-1.27	29.01-28.69	30.76-30.47
21	1.30	1.38/1.32	24.81	26.52
22	1.54/1.45	1.65/1.52	35.31	37.00
23	4.81	4.95	70.04	73.09
24	1.15	1.24	19.69	20.22
1'	-	-	173.43	175.35
2'	3.95	4.13	70.89	72.97
3'	3.95	4.17	70.04	71.59
4'	3.54	3.82	67.96	69.80
5'	3.65	3.86	78.94	80.12
6'	3.74/3.44	3.90/3.69	62.11	63.25
1''	4.53	4.71	100.27	101.34
2''	3.74	3.95	70.37	72.46
3''	3.22	3.44	73.67	75.30
4''	3.21	3.49	67.54	69.00
5''	3.04	3.22	77.15	78.23
6''	3.72/3.31	3.88/3.63	61.80	63.25
Ac-C'	-	a)	-	a)
Ac-Me	a)	a)	a)	a)

a) Für diese Protonen/Kohlenstoffatome wird in MeOD, bzw. DMSO kein Signal beobachtet (Aggregation).

Tabelle 3: ^1H - und ^{13}C -chemische Verschiebungen von Caloporosid C in Methanol- d_4 bei 300K

	^1H	^{13}C
1	-	175.90
2	-	116.73
3	-	163.67
3-Ac-Me	a)	a)
3-Ac-C'	-	a)
4	6.73	116.73
5	7.16	~ 132.6 ^{b)}
6	6.55	123.53
7	-	139.51
8	2.49	43.06
9	1.53	24.75
10-20	1.36-1.26	30.78-30.62
21	1.38/1.33	26.54
22	1.65/1.52	37.02
23	4.95	73.04
24	1.24	20.22
1'	-	175.17
2'	4.17	72.82
3'	4.08	71.60
4'	3.71	69.79
5'	4.07	76.38
6'	4.60/4.14	66.43
7'	-	170.55
8'	3.27 ^{c)}	~ 44.8
9'	-	173.12
1''	4.93	99.40
2''	5.33	73.40
3''	3.72	73.40
4''	3.42	69.34

5"	3.34	78.19
6"	3.89/3.62	63.11
2"-Ac-Me	2.11	21.17
2"-Ac-C'	-	172.56

a) Für diese Kerne wird kein Signal beobachtet (starke Signalverbreiterung).

b) Signalverbreiterung

c) Das Signal für die Protonen in Position 8' wird nur in der frisch angesetzten Lösung

5 beobachtet (schneller Austausch gegen Deuterium).

Tabelle 4: ^1H - und ^{13}C -chemische Verschiebungen von Caloporosid D und E in Methanol- d_4 bei 300K

	^1H Caloporosid D	^{13}C Caloporosid D	^1H Caloporosid E	^{13}C Caloporosid E
1	-	-	176.28	176.28
2	-	-	120.37	120.37
3	-	-	162.12	162.12
4	6.61	6.61	114.91	114.91
5	7.06	7.06	131.53	131.53
6	6.58	6.58	122.23	122.23
7	-	-	147.22	147.22
8	3.04	3.04	36.31	36.31
9	1.55	1.55	33.35	33.35
10-20	1.36-1.25	1.36-1.25	31.07-30.61	31.07-30.61
21	1.38/1.32	1.38/1.32	26.53	26.53
22	1.65/1.53	1.65/1.53	37.01	37.01
23	4.95	4.95	73.13 ^{a)}	73.07 ^{a)}
24	1.24	1.24	20.23	20.23
1'	-	-	175.18	175.40
2'	4.17	4.15	72.80	72.80
3'	4.08	4.15	71.61	71.53
4'	3.71	3.85	69.78	69.27

5'	4.07	4.08	76.40	77.07
6'	4.58/4.14	4.59/4.24	66.35	65.43
7'	-	-	~170.4	~170.4
8'	3.28	3.28	~ 45.0	~ 45.0
9'	-	-	~173.0	~ 173.0
1"	4.93	4.84	99.40	100.20
2"	5.33	4.03	73.41	70.27
3"	3.72	4.78	73.39	77.44
4"	3.42	3.71	69.32	66.35
5"	3.34	3.38	78.35	78.00
6"	3.91/3.62	3.89/3.65	63.09	62.96
2"/3"-Ac-Me	2.11	2.00	21.18	20.98
2"/3"-Ac-C'	-	-	172.59	172.36

a) Diese Signale können nicht eindeutig zugeordnet werden.

Tabelle 5: ^1H - und ^{13}C -chemische Verschiebungen von Caloporosid F in Methanol- d_4 bei 300K

	^1H	^{13}C
1	-	174.95
2	-	117.32
3	-	162.18
4	6.68	115.42
5	7.17	133.17
6	6.67	122.65
7	-	146.91
8	2.93	36.57
9	1.56	33.27
10-20	1.36-1.25	30.93-30.62
21	1.35	26.53

22	1.65/1.53	37.02
23	4.95	73.05
24	1.24	20.23
1'	-	175.15
2'	4.17	72.98
3'	4.09	71.73
4'	3.71	69.88
5'	3.85	79.59
6'	3.90/3.61	63.57
1"	4.88	99.76
2"	5.37	73.52
3"	3.63	73.56
4"	3.46	69.27
5"	3.28	78.33
6"	3.91/3.63	63.06
Ac-C'	-	173.03
Ac-Me	2.13	21.21

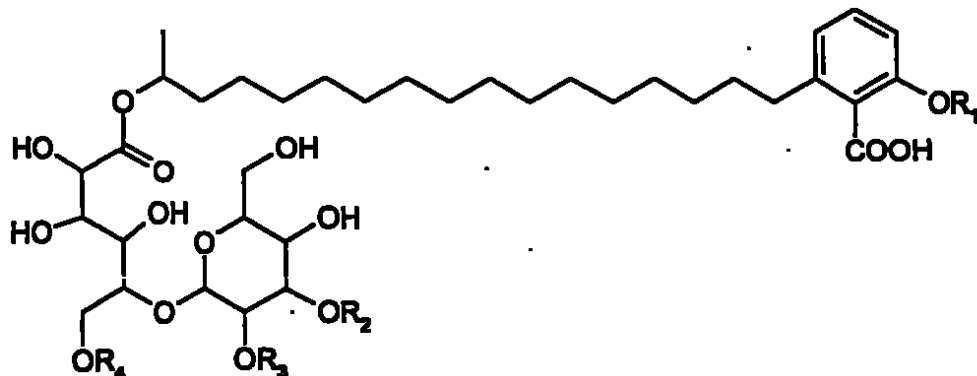
Beispiel 8: Bioassay auf CDK-4 Inhibitoren

- 5 Für die Bestimmung des IC_{50} -Wertes werden von den erfindungsgemäßen Naturstoffen Stammlösungen in einer Konzentration von 10 mM hergestellt. 384-well FlashPlates werden mit 50 μ l (50 μ g/well) biotinyliertem Peptidsubstrat bei Raumtemperatur in 2 Stunden beschichtet und anschließend 3 x mit PBS Puffer gewaschen. Für die Reaktion werden 30 μ l einer mit Puffer verdünnten Lösung der
- 10 Caloporosid- Derivate und 20 μ l einer vorgemischten ATP/CyclinD1/CDK4 Lösung (Endkonzentration: 1 μ Ci ^{33}P - γ -ATP, 2 μ M ATP und 1 μ g Enzymgemisch) auf die Platten pipettiert. Nach 2 Stunden Reaktionszeit bei 37° C werden die Platten 3 x mit je 80 μ l Phosphorsäure 3% gewaschen und anschließend in einem MicroBeta Counter 30 Sekunden lang vermessen. Die Bestimmung der prozentualen Inhibierung erfolgt

unter Zuhilfenahme mathematischer Gleichungen. Für die Bestimmung von IC_{50} -Werten werden 10 Konzentrationen einer frisch verdünnten DMSO-Lösung der erfindungsgemäßen Substanzen getestet.

Patentansprüche:

1. Verbindungen der Formel I



5

in der bedeuten:

R_1 , R_2 , R_3 , unabhängig voneinander H oder Acylreste mit 1 bis 10 C-Atomen; und

R_4 H oder $-C(O)(CH_2)_nCOOH$, worin n gleich 1 bis 7 ist;

mit der Ausnahme daß R_1 , R_2 , R_3 und R_4 nicht alle H bedeuten;

10 sowie deren physiologisch verträglichen Salze.

2. Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 in der bedeuten:

R_1 , R_2 und R_3 , unabhängig voneinander H oder Acetyl; und

15 R_4 H oder Malonyl ($n = 1$);

sowie deren physiologische verträglichen Salze.

3. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder 2 in der bedeuten:

20 R_1 Acetyl; und

R_2 , R_3 und R_4 H;

sowie deren physiologische verträglichen Salze.

4. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder 2 in der bedeuten:

25

R₁ und R₃ Acetyl;
 R₂ H; und
 R₄ Malonyl;
 sowie deren physiologische verträglichen Salze.

5

5. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder 2 in der bedeuten:

R₁ und R₂ H;
 R₃ Acetyl; und
 10 R₄ Malonyl;

sowie deren physiologische verträglichen Salze.

6. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder 2 in der bedeuten:

15

R₁ und R₃ H;
 R₂ Acetyl; und
 R₄ Malonyl;

20

sowie deren physiologische verträglichen Salze.

7. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder 2 in der bedeuten:

25

R₁, R₂ und R₄ H; und
 R₃ Acetyl;

sowie deren physiologische verträglichen Salze.

30

8. Verbindung der Formel I oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1-7 herstellbar indem der Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* (Fr.: Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, bzw. einer seiner Varianten oder Mutanten unter geeigneten Bedingungen

fermentiert wird, eine oder mehrere der Caloporosid- Derivate isoliert werden und diese gegebenenfalls in physiologisch verträglichen Salze überführt werden.

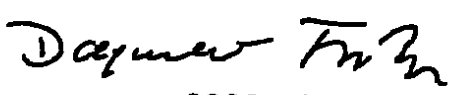
- 5 9. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß der Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* (Fr.: Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, bzw. einer seiner Varianten oder Mutanten unter geeigneten Bedingungen fermentiert wird, eine oder mehrere der
- 10 Calopörösid- Derivate isoliert werden und diese gegebenenfalls in physiologisch verträgliche Salze überführt werden.
10. Verfahren gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Fermentation unter aeroben Bedingungen bei einer Temperatur zwischen 18 und 35°C und
- 15 bei einem pH zwischen 5 und 8 durchgeführt wird.
11. Verbindung der Formel I oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1-8 zur Anwendung als Arzneimittel.
- 20 12. Verbindung der Formel I, oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 – 8 zur Verwendung als CDK Inhibitor.
- 25 13. Verwendung von einer Verbindung der Formel I, oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1-8 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krebs oder anderen Erkrankungen mit einer pathologischen Störung der Zellproliferation.
- 30 14. Arzneimittel mit einem Gehalt an mindestens einer Verbindung der Formel I, oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1-8.

15. Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß man mindestens eine Verbindung der Formel I, oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1-8 den mit geeigneten Hilfs- und/oder Trägerstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt.
- 5
16. Mikroorganismus *Gloeoporus dichrous* (Fr.: Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784.

INTERNATIONALES FORMBLATT

Aventis Pharma AG
Industriepark Höchst
65926 Frankfurt am Main

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
angestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugewiesenes Bezugszeichen: ST 001714	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugewiesene EINGANGSNUMMER: DSM 13784
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde ☐ eine wissenschaftliche Beschreibung ☒ eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2000-10-13 (Datum der Ersthinterlegung) ¹ eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser internationalen Hinterlegungsstelle am eingegangen (Datum der Ersthinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapester Vertrag ist am eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:  Datum: 2000-10-23

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K31/70 A61P35/00 C07H13/06 C07H15/18		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07D A61K A61P C07H		
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, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WEBER W ET AL: "Caloporoside, a new inhibitor of phospholipases C from Caloporus dichrous (Fr.) Ryv." THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS. JAPAN NOV 1994, vol. 47, no. 11, November 1994 (1994-11), pages 1188-1194, XP001088232 ISSN: 0021-8820 page 1191; figure 1 --- -/--	1-15
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☐ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document 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 "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
25 July 2002		02/08/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Stroeter, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/01916

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CRICH D ET AL: "Convergent, Stereoselective Synthesis of the Caloporoside Disaccharide" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 39, no. 51, 17 December 1998 (1998-12-17), pages 9339-9342, XP004144195 ISSN: 0040-4039 page 9339; figures 1,2	1-15
A	FAENZA I ET AL: "A role for nuclear phospholipase Cbeta 1 in cell cycle control." THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. UNITED STATES 29 SEP 2000, vol. 275, no. 39, 29 September 2000 (2000-09-29), pages 30520-30524, XP001088079 ISSN: 0021-9258 the whole document	1-15
A	HAJDÚCH M ET AL: "Synthetic cyclin dependent kinase inhibitors. New generation of potent anti-cancer drugs." ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY. UNITED STATES 1999, vol. 457, 1999, pages 341-353, XP002201689 ISSN: 0065-2598 abstract	1-15
T	ORTEGA A B S ET AL: "Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer" BBA - REVIEWS ON CANCER, ELSEVIER SCIENCE BV, AMSTERDAM, NL, vol. 1602, no. 1, 14 March 2002 (2002-03-14), pages 73-87, XP004349034 ISSN: 0304-419X the whole document	1-15

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 A61K31/70 A61P35/00 C07H13/06 C07H15/18		
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RESEARCHIERTE GEBIETE Researchierter Mindestprüfstoß (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07D A61K A61P C07H		
Researchierte aber nicht zum Mindestprüfstoß gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die researchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal; WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, MEDLINE		
C. ALS WESENTLICH ANGEZEICHNETE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WEBER W ET AL: "Caloporuside, a new inhibitor of phospholipases C from Caloporus dichrous (Fr.) Ryv." THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS. JAPAN NOV 1994, Bd. 47, Nr. 11, November 1994 (1994-11), Seiten 1188-1194, XP001088232 ISSN: 0021-8820 Seite 1191; Abbildung 1 — -/-	1-15
☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☐ Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : * "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist * "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist * "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) * "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht * "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist * "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipien oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist * "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderschaftlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden * "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderschaftlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist * "A" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 25. Juli 2002		Abschließdatum des internationalen Recherchenberichts 02/08/2002
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Beauftragter Stroeter, T

C.(Fortsetzung) ALS WESSENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CRICH D ET AL: "Convergent, Stereoselective Synthesis of the Caloporoside Disaccharide" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 39, Nr. 51, 17. Dezember 1998 (1998-12-17), Seiten 9339-9342, XP004144195 ISSN: 0040-4039 Seite 9339; Abbildungen 1,2	1-15
A	FAENZA I ET AL: "A role for nuclear phospholipase Cbeta 1 in cell cycle control." THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. UNITED STATES 29 SEP 2000, Bd. 275, Nr. 39, 29. September 2000 (2000-09-29); Seiten 30520-30524, XP001088079 ISSN: 0021-9258 das ganze Dokument	1-15
A	HAJDÚCH M ET AL: "Synthetic cyclin dependent kinase inhibitors. New generation of potent anti-cancer drugs." ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY. UNITED STATES 1999, Bd. 457, 1999, Seiten 341-353, XP002201689 ISSN: 0065-2598 Zusammenfassung	1-15
T	ORTEGA A B S ET AL: "Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer" BBA - REVIEWS ON CANCER, ELSEVIER SCIENCE BV, AMSTERDAM, NL, Bd. 1602, Nr. 1, 14. März 2002 (2002-03-14), Seiten 73-87, XP004349034 ISSN: 0304-419X das ganze Dokument	1-15

NO 02/072110

PCT/EP02/01916

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO
INTERNACIONAL DEL DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
PARA PROPOSITOS DE PROCEDIMIENTOS DE PATENTE

FORMULARIO INTERNACIONAL

Aventis Pharma AG
Industriepark Höchst
65926 Frankfurt am Main

CONFIRMACION DE RECIBO DE DEPOSITO ORIGINAL
expedida conforme a la Norma 7.1 por la
AUTORIDAD DEPOSITARIA INTERNACIONAL
identificada al pie de esta página

I. IDENTIFICACION DEL MICROORGANISMO

Referencia dada por el	Número de acceso expedido por la
DEPOSITANTE:	AUTORIDAD DEPOSITARIA INTERNACIONAL:
ST 001714	DSM 13784

II. DESCRIPCION CIENTIFICA Y/O DENOMINACION TAXONOMICA SUGERIDA

El microorganismo identificado en la sección I se entregó junto con
() una descripción científica
(X) una denominación taxonómica sugerida

III. RECIBO Y ACEPTACION

La presente Autoridad Depositaria Internacional acepta el microorganismo
identificado en la sección I, el cual se recibe el 2000-10-13 (fecha del
depósito original).

IV. RECIBO DE UNA SOLICITUD DE TRANSFORMACION

La presente Autoridad Depositaria Internacional recibió el microorganismo
identificado bajo la sección I el ____ (fecha del depósito original) y re-
cibió la solicitud de transformación del depósito original de conformidad
con el Tratado de Budapest el ____ (fecha del recibo de la solicitud de
transformación).

V. AUTORIDAD DEPOSITARIA INTERNACIONAL

Nombre: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Dirección: Mascheroder Weg 1b
D-38124 Braunschweig

Firma de la persona autorizada para representar a la Autoridad Depositaria
Internacional:

(firma ilegible)

Fecha: 2000-10-23

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No. PCT/EP 02/01916

A. CLASIFICACION DEL ASUNTO

IPK 7 A61/K31/70 A61P35/00 C07H13/06 C07H15/18

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (IPK) o tanto con la clasificación nacional como con la IPK.

B. AREAS BUSCADAS

Material mínimo de examen sometido a búsqueda (sistema de clasificación seguido por símbolos de clasificación):

IPK 7 C07D A61K A61P C07H

Documentación buscada que no hace parte del material mínimo de examen, si ella pertenece a las áreas buscadas: -

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos, términos de búsqueda usados)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, MEDLINE

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

<u>Categoría*</u>	<u>Documento</u>	<u>No. de reivindicación relevante</u>
A	WEBER W Y COLABORADORES: "Caloporiside, a new inhibitor of phospholipases C from Caloporous dichrous /Fr.) Ryv." THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS. JAPAN NOW 1994, Vol. 47, No. 11, Noviembre 1994 Páginas 1188-1194, XP001088232 ISSN: 0021-8820 Página 1191; Figura 1	1.15

X En la continuación del Campo C se citan otros documentos

 Ver en Anexo miembros de la familia de patentes

* Categorías especiales de los documentos citados:

"A" Documento que define el estado general de la técnica y que no es considerado como particularmente relevante.

"T" Documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o de la fecha de prioridad y que no está en

conflicto con la solicitud pero que se cita para comprender el principio o la teoría subyacente a la invención.

"X" Documento de particular relevancia; la invención reivindicada no puede ser considerada novedosa o no puede ser considerada basada en una actividad inventiva cuando el documento se toma individualmente

"Y" Documento de particular relevancia; no se puede considerar que la invención reivindicada involucre un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o con varios de dichos documentos, siendo tal combinación obvia para las personas que tienen experiencia en este campo de la técnica.

Fecha de la conclusión de la búsqueda internacional:

25 de Julio del 2002

Fecha de envío del reporte de búsqueda internacional:

02/08/2002

Nombre y dirección postal de la autoridad internacional de búsqueda:

Oficina Europea de Patentes

P.B. 5818 Patentlaan 2

NL - 2280 HV Rijswijk

Funcionario autorizado:

Stroeter, T

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

<u>Categoría*</u>	<u>Documento</u>	<u>No. de reivindicación relevante</u>
A	CRICH D Y COLABORADORES: "Convergent Stereoselective Synthesis of the Caloporoside Disaccharide" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Vol. 39, No. 51, 17 Diciembre 1988, Páginas 9339-9342, XP004144195 ISSN: 0040-4039 Página 9339; Figuras 1,2	1-15
A	FAENZA I Y COLABORADORES: "A role for nuclear phospholipasa Cbeta 1 in cel cycle control" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. UNITED STATES 29 SEP 2000, Vol. 275, No. 39, 29 Septiembre 2000, Páginas 30520-30524, XP001088079 ISSN: 0021-9258 todo el documento	1-15
A	HAIDÚCH M Y COLABORADORES: "Synthetic cyclin dependent kinase inhibitors. New generation of potent anti-cancer drugs." ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY. UNITED STATES 1999, Vol. 457, 1999, Páginas 341-353, XP002201689 ISSN: 0065-2598 resumen	1-15
T	ORTEGA A B S Y COLABORADORES: "Cyclin D-dependent KINASES, INK4 inhibitors and cancer" BBA - REVIEWS ON CANCER, ELSEVIER SCIENCE BV, AMSTERDAM, NL, Vol. 1602, No. 1, 14 Marzo 2002, Páginas 73-87, ISSN: 0304-419X todo el documento	1-15

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA DE CONFORMIDAD CON
EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de publicación internacional: 19 Septiembre 2002

(10) Número de publicación internacional: **WO 02/072110 A1**

PCT

(51) Clasificación internacional de patentes⁷: A61K 31/70,
A61P 35/00, C07H 13/06, 15/18

(21) Número de referencia internacional: PCT/EP02/01916

(22) Fecha de solicitud internacional: 23 Febrero 2002

(25) Idioma de presentación: Alemán

(26) Idioma de publicación: Alemán

(30) Fechas referentes a la prioridad:

101 11 682.9 9 Marzo 2001 DE

(71) Solicitante: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH
[DE/DE]; Brünningstrasse 50, 65929 Frankfurt (DE)

(72) Inventores:

EDER, Claudia; Flörsheimer Strasse 7, 65719 Hofheim
(DE). KURZ, Michael; Erlenweg 7, 65719 Hofheim (DE).
BRÖNSTRUP, Mark; Musikantenweg 16, 60316 Frankfurt (DE).
TOTI, Luigi; Frankfurter Strasse 5, 65239 Hofheim(DE).

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

(84) Países designados (*regional*): Patente ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Patente Eurasia

(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente Europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- *Con Reporte de Búsqueda Internacional.*
- *Antes de expirar el período dispuesto para enmendar las reivindicaciones, será publicada nuevamente si se reciben tales enmiendas.*

Para una explicación de los códigos de dos letras y las otras abreviaturas, se hace referencia a las explicaciones ("Notas Guía sobre Códigos y Abreviaturas") al principio de cada edición regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: DERIVADOS DE CALOPOROSIDO, METODOS PARA PREPARARLOS Y USO DE ELLOS

(57) Resumen: La invención se refiere a nuevas sustancias activas (derivados de caloporosido) que son formadas por el microorganismo *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, durante la fermentación. La invención también se refiere a la preparación de dichas sustancias activas, a su uso como medicamentos, a medicamentos que contienen derivados de caloporosido, y al microorganismo *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784.

Derivados de caloporosido,
procedimiento para prepararlos y uso de ellos

La presente invención se refiere a nuevas sustancias activas (derivados de caloporosido) que son producidas por el microorganismo *Gloeoporus dichrous* Bres. ST001714, DSM 13784, durante la fermentación, también se refiere a un procedimiento para preparar dichas sustancias, a su uso como medicamentos, a medicamentos que contienen derivados de caloporosido, y al el microorganismo *Gloeoporus dichrous* Bres. ST001714, DSM 13784.

Caloporosido fue descrito como un inhibidor de fosfolipasa C por primera vez en 1994 (W. Weber y colaboradores, *J. Antibiotics*, 47, 1188-1194). Ese mismo año fueron aislados otros dos metabolitos secundarios similares (R. Shan y colaboradores, *Nat. Prod. Lett.*, 4, 171-178). Los compuestos de la invención de la fórmula I (abajo) difieren en su estructura de las sustancias descritas allí.

El cáncer es una enfermedad de humanos y animales que usualmente tiene un desenlace fatal y que es causado por el crecimiento incontrolado de las propias células del cuerpo. Cáncer es el nombre dado a la formación de crecimientos malignos, de neoplasmas (tumores o carcinomas) o a la formación maligna y a la maduración perturbada de células blancas de la sangre (leucemia). Las células cancerosas o las células tumorales se desarrollan por la transformación de las propias células del cuerpo. La malignidad de la célula cancerosa es expresada por la autonomía del crecimiento, es decir por su capacidad de crecimiento infiltrativo desenfrenado que no encaja en el plan estructural de los órganos y con destrucción de tejido. Un signo seguro de malignidad es la formación de metastasis lejanas del tumor después de la diseminación hematógica o linfógena. El cáncer es una de las causas más comunes de muerte en

humanos y por consiguiente existe una gran necesidad de métodos y medios para curar o tratar las degeneraciones malignas.

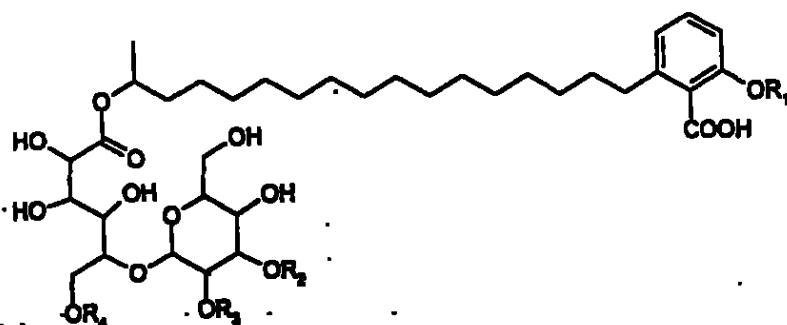
La posible terapia de tumores malignos abarca además la eliminación quirúrgica del tumor -si es posible radical-, la terapia radiológica con rayos x, alfa, beta y gama, la inmunoterapia y la quimioterapia. Actualmente la quimioterapia se puede aplicar únicamente en grado limitado. Quimioterapia de tumores significa administrar venenos celulares (citostáticos) para el tratamiento de los tumores y de las células tumorales restantes después del tratamiento quirúrgico local o de la irradiación. Estas sustancias intervienen específicamente en los procesos particulares de división celular, de tal modo que los tejidos con alta proporción de células en división, como por ejemplo el tejido tumoral rápidamente creciente, reaccionan más sensiblemente. Las sustancias usadas son compuestos alquilantes tales como por ejemplo ciclofosfamida (The Merck Index, 2ª Ed., página 464), antimetabolitos tales como metotrexato (The Merck Index, 2ª Ed., página 479) y Adriamicina (The Merck Index, 2ª Ed., páginas 581-582). No obstante, debido a los extensos efectos secundarios, todos estos agentes tienen grandes desventajas, de tal modo que únicamente se logra retardar la muerte del paciente pero no evitarla. Además, en las células (cancerosas) degeneradas se presenta resistencia a los agentes. Los medicamentos actuales no tienen entonces ya efectos citostáticos sino que son tóxicos debido a los efectos secundarios. Además, se ha observado que un uso combinado o secuencial de citostáticos supera la eficacia de un único citostático (monoterapia), y por consiguiente es posible que con la poliquimioterapia no haya una adición considerable de efectos secundarios. Por todas estas razones existe una necesidad apremiante y por lo tanto una investigación mundial de nuevos agentes quimioterapéuticos.

Las cinasas dependientes de ciclina (= CDKs) desempeñan un papel central en la regulación del ciclo celular. Ellas catalizan las reacciones de fosforilación y por lo tanto inician una cascada de reacciones que inician una transición de la fase G1 (fase de crecimiento 1) a la fase S (fase de síntesis) en el ciclo celular. Las cinasas dependientes de ciclina representan por consiguiente un buen blanco terapéutico para el tratamiento del cáncer y de otras enfermedades con una alteración patológica de la proliferación celular. Los inhibidores de bajo peso molecular que regulan el ciclo celular y evitan la división celular incontrolada serían sustancias médicas útiles para el tratamiento de pacientes con cáncer.

Sorprendentemente se ha encontrado que la cepa de microorganismos *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784 es capaz de producir citostáticos nuevos altamente eficaces que inhiben los cinasas dependientes de ciclina en concentraciones muy bajas.

La invención se refiere por consiguiente a las sustancias activas producidas por la cepa *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784 (derivados de caloporosido) y a las sales y ésteres fisiológicamente tolerados y a los equivalentes químicos obvios de ellas.

La invención entonces se refiere a compuestos de la fórmula I



en la cual

R_1 , R_2 y R_3 independientemente uno del otro son H ó un radical acilo que tiene 2-10 átomos de carbono, preferiblemente 2 a 6

átomos, más preferiblemente 2 átomos de carbono; y R_4 es H o $-C(O)(CH_2)_nCOOH$, en donde n es 1 a 7, preferiblemente 1 a 3, más preferiblemente 1 o 2; con la excepción de que R_1 , R_2 , R_3 y R_4 no son todos H; y sus sales fisiológicamente toleradas.

Los radicales acilo de los compuestos de la fórmula I pueden ser de cadena lineal o ramificada, saturados, monoinsaturados o diinsaturados.

Un radical acilo que tiene 2 átomos de carbono significa, por ejemplo, un radical acetilo.

Ejemplos de radicales acilo no-ramificados saturados son un resto ácido acético (C=2), un resto ácido propiónico (C=3), un resto ácido butírico (C=4), un resto ácido valérico (C=5), un resto ácido caproico (C=6), un resto ácido enático (C=7), un resto ácido caprílico (C=8), un resto ácido pelargónico (C=9) y un resto ácido capríco (C=10).

Ejemplos de radicales ácido no-ramificados monoinsaturados son un resto de ácido acrílico (C=3), un resto de ácido crotónico (C=4) o un resto de ácido vinilacético (C=4).

Un ejemplo de un radical acilo no-ramificado diinsaturado es un resto de ácido sórbico (C=6).

Los caloporosidos son antibióticos que tienen una débil actividad y están compuestos de un ácido salicílico y un disacárido. Las dos cadenas estructurales están conectadas por una cadena alquilo. La mitad azúcar en el compuesto de la fórmula I puede ser un disacárido compuesto en cada caso de una D-piranosas de una aldohexosa (tal como por ejemplo D-glucopiranosas o D-galactopiranosas) y el ácido ónico de una aldohexosa (por ejemplo ácido D-glucónico). La mitad azúcar es preferiblemente ácido D-manopiranosil-D-manónico que está insustituído o sustituido por R_2 , R_3 y/o R_4 definidos según se especificó arriba.

La invención se refiere además a

- a) un compuesto de la fórmula I, en la cual $R_1 = \text{acetilo}$; $R_2 = R_3 = R_4 = H$ (= caloporosido B: fórmula molecular: $C_{38}H_{62}O_{16}$, peso molecular 774,9) y a las sales de dicho compuesto toleradas fisiológicamente;
- b) un compuesto de la fórmula I, en la cual $R_1 = R_2 = H$; $R_3 = \text{acetilo}$; $R_4 = \text{malonilo}$ (= caloporosido C: fórmula molecular: $C_{43}H_{66}O_{20}$, peso molecular 902,99) y a las sales de dicho compuesto toleradas fisiológicamente;
- c) un compuesto de la fórmula I, en la cual $R_1 = R_2 = H$; $R_3 = \text{acetilo}$; $R_4 = \text{malonilo}$ (= caloporosido D: fórmula molecular: $C_{41}H_{64}O_{19}$, peso molecular 806,96) y a las sales de dicho compuesto toleradas fisiológicamente;
- d) un compuesto de la fórmula I, en la cual $R_1 = R_3 = H$; $R_2 = \text{acetilo}$; $R_4 = \text{malonilo}$ (= caloporosido E: fórmula molecular: $C_{41}H_{64}O_{19}$, peso molecular 806,96) y a las sales de dicho compuesto toleradas fisiológicamente;
- e) un compuesto de la fórmula I, en la cual $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = \text{acetilo}$ (= caloporosido F: fórmula molecular: $C_{38}H_{62}O_{16}$, peso molecular 774,9) y a las sales de dicho compuesto toleradas fisiológicamente;

Los centros de quiralidad en los compuestos de la fórmula I pueden estar en la configuración R o S a menos que se indique otra cosa distinta. La invención se refiere tanto a los compuestos ópticamente puros como a las mezclas de esteroisómeros, tales como mezclas de enantiómeros y mezclas de diasterómeros.

Los compuestos de la fórmula I son obtenibles de acuerdo con la invención mediante fermentación de *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784, o de una de sus variantes o mutantes bajo condiciones apropiadas en un medio de cultivo hasta que en el medio de cultivo se acumulan uno o varios

derivados de caloporosido de la fórmula I. Los derivados de caloporosido se obtienen mediante subsiguiente aislamiento de los compuestos y, eventualmente, mediante conversión a los equivalentes químicos y a las sales de éstos fisiológicamente toleradas.

Por consiguiente la invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula I que comprende fermentar el microorganismo *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784 o una de sus variantes o mutantes bajo condiciones apropiadas en un medio de cultivo hasta que uno o varios de los compuestos deseados se acumulan en el medio de cultivo y son aislados subsiguientemente del medio de cultivo y, eventualmente, convertidos en los equivalentes químicos y/o en las sales fisiológicamente toleradas.

La cepa ST001714, DSM 13784, sus mutantes y/o variantes, se fermentan preferiblemente en una solución nutriente o en un medio sólido (también denominado medio de cultivo) con fuente de carbono y nitrógeno y con sales inorgánicas convencionales hasta que los compuestos de la invención se acumulan en el medio de cultivo, y después los compuestos se aíslan del medio de cultivo y, eventualmente, se fraccionan en los componentes activos individuales.

El procedimiento de la invención puede emplearse para fermentación a escala de laboratorio (ámbito de mililitros hasta litros) y a escala industrial (escala de metros cúbicos).

La cepa *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714 se multiplicó en un precultivo. Se aisló una porción y fue depositada en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1B en 3300 Brunswick, Alemania, de acuerdo con las normas del Tratado de Budapest en Diciembre 14 de 1999 bajo el siguiente número: DSM13784.

Gloeoporus dichrous (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784, tiene un micelio blanco y esporas púrpura. Él ocurre da preferencialmente en *Betula*, pero puede infestar también otros huéspedes, por ejemplo *Alnus*, *Salix*, *Populus*, *Ulmus*, *Prunus*.

En vez de la cepa *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784, es también posible usar mutantes y variantes de ella que sintetizan uno o varios de los compuestos de la invención. Tales pueden ser generados por medios físicos de una manera de por sí conocida, por ejemplo irradiación con rayos ultravioleta o rayos x, o mutágenos químicos tales como por ejemplo etil metanosulfonato (EMS), 2-hidroxi-4-metoxienzo-fenona (MOB) o N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG).

El examen de los mutantes y variantes que sintetizan uno o varios de los compuestos de la invención tiene lugar de acuerdo con el siguiente esquema:

- liofilización de los cultivos de placa;
- extracción del producto liofilizado con un solvente orgánico;
- extracción del compuesto del filtrado de cultivo con fases sólidas;
- análisis mediante HPLC, TLC o sometiendo a prueba la actividad biológica.

Las condiciones de fermentación descritas abajo se aplican a la cepa *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, al producto aislado depositado DSM 13784 y a los mutantes y variantes de éste. En una solución nutritiva que contiene una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno y las sales inorgánicas usuales, *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784, produce los derivados de caloporosido.

Fuentes de carbono apropiadas y preferidas para la fermentación son los carbohidratos asimilables y los alcoholes de azúcar tales como glucosa, lactosa, sucrosa o D-manitol, y los

productos naturales contenedores de carbohidratos tales como, por ejemplo, el extracto de malta. Nutrientes apropiados contenedores de nitrógeno son: los amino ácidos, los péptidos y las proteínas y sus productos de degradación tales como caseína, peptonas o triptonas, también los extractos de carne, los extractos de levadura, las semillas trituradas como por ejemplo de maíz, trigo, frijol, soya o la planta de algodón, los residuos de destilación de la producción de alcohol, las harinas de carne o los extractos de levadura, pero también las sales y los nitratos de amonio, pero especialmente también los péptidos obtenidos sintéticamente o biosintéticamente. Sales orgánicas que la solución nutriente puede contener son, por ejemplo, cloruros, carbonatos, sulfatos o fosfatos de metales alcalinos o alcalino térreos, hierro, zinc, cobalto y manganeso.

Los compuestos de la invención se producen particularmente bien en una solución nutriente que contiene aproximadamente de 0,05 a 5%, preferiblemente de 1 a 2%, de extracto de malta, de 0,05 a 3%, preferiblemente de 0,05 a 1% de extracto de levadura y de 0,2 a 5%, preferiblemente de 0,5 a 2% de glucosa, de 0,5 a 3%, preferiblemente de 0,5 a 3% de polvo de celulosa y trazas de sulfato de amonio. Los datos percentuales se basan en cada caso en el peso de la solución nutriente completa.

En esta solución nutriente *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST 001714, DSM 13784, produce una mezcla de derivados de caloporosido. En términos de porcentaje la cantidad de uno o varios de los derivados de caloporosido puede variar dependiendo de la composición de la solución nutriente. Además mediante la composición del medio es posible controlar la síntesis de los derivados individuales de caloporosido, de tal modo que el microorganismo no produzca determinado derivado o que lo produzca en una cantidad por debajo del límite de detección.

El microorganismo es cultivado aeróbicamente, es decir por ejemplo sumergido con agitación en matraces agitadores o fer-

mentadores, eventualmente con introducción de aire u oxígeno, o en un medio sólido. El cultivo puede tener lugar en un ámbito de temperatura entre aproximadamente 18 y 35°C, preferiblemente entre aproximadamente 20 y 30°C, más preferiblemente entre 25 y 30°C. El pH debe estar entre 5 y 8, preferiblemente entre 5,5 y 6,5. Generalmente el microorganismo se cultiva bajo estas condiciones durante un periodo de 24 a 720 horas, preferiblemente de 288 a 576 horas.

El cultivo se lleva a cabo ventajosamente en una pluralidad de niveles, es decir primeramente se producen uno o varios cultivos en un medio líquido y luego se transfieren al cultivo de producción propiamente dicho, el cultivo principal, por ejemplo en una proporción de volumen 1:10. El precultivo se obtiene, por ejemplo, transfiriendo un micelio a una solución nutritiva y permitiéndole que se desarrolle durante aproximadamente 36 a 120 horas, preferiblemente de 48 a 72 horas. El micelio puede ser obtenido, por ejemplo, permitiendo que la cepa se desarrolle durante aproximadamente 3 a 40 días, preferiblemente 10 a 30 días, en un medio nutritivo sólido o líquido, por ejemplo agar de malta/levadura o agar de papa/dextrosa.

El avance de la fermentación puede ser monitoreado sobre la base del pH de los cultivos o del volumen del micelio y mediante métodos cromatográficos tales como, por ejemplo, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), o sometiendo a prueba la actividad biológica.

El proceso de fermentación descrito abajo se usa para purificar los derivados de caloporosido de la invención.

El aislamiento o la purificación de un derivado de caloporosido de la invención del medio de cultivo se efectúa mediante métodos conocidos, teniendo en cuenta las propiedades químicas, físicas y biológicas de las sustancias naturales. Se puede usar HPLC para someter a prueba la concentración de los respectivos derivados de caloporosido en el medio de cultivo o

en los niveles individuales de aislamiento, comparando convenientemente la cantidad de sustancia producida con una solución de calibración.

Para aislar los compuestos de la invención se liofiliza el caldo de cultivo o el cultivo conjuntamente con el medio sólido, y luego los derivados de caloporosido se extraen del producto liofilizado con un solvente orgánico que opcionalmente es miscible con agua. La fase de solvente orgánico contiene las sustancias naturales de la invención, y se concentra eventualmente al vacío y se purifica adicionalmente.

La purificación adicional de uno o varios de los componentes de la invención se efectúa mediante cromatografía en materiales apropiados, preferiblemente por ejemplo en tamices moleculares, en gel de sílice, óxido de aluminio, en intercambiadores de iones o en resinas adsorbentes o en fases inversas (RP). Los derivados de caloporosido se separan mediante esta cromatografía. La cromatografía de los derivados de caloporosido se efectúa con soluciones acuosas amortiguadas o mezclas de soluciones acuosas y orgánicas.

Mezclas de soluciones acuosas u orgánicas significa todos los solventes orgánicos miscibles con agua, preferiblemente metanol, propanol y acetonitrilo, en una concentración de 5 a 80% de solvente, o también todas las soluciones acuosas amortiguadas que son miscibles con solventes orgánicos. Los amortiguadores que se han de usar son los mismo indicados arriba.

La separación de los derivados de caloporosido sobre la base de sus diferencias de polaridad se efectúa con la ayuda de la cromatografía de fase inversa, por ejemplo en MCI® (resina adsorbente de Mitsubishi, Japón) o Amberlite® (TOSOHAAS), en otros materiales hidrofóbicos como por ejemplo en fases RP-8 o RP-18. La separación puede efectuarse adicionalmente con la ayuda de cromatografía de fase normal, por ejemplo en gel de sílice, óxido de aluminio y similares.

La cromatografía de los derivados de caloporosido se efectúa con soluciones acuosas amortiguadas o acidificadas o mezclas de soluciones acuosas con alcoholes u otros solventes orgánicos miscibles con agua. Como solvente orgánico se usa preferiblemente propanol y acetonitrilo.

Soluciones acuosas amortiguadas o acidificadas significa, por ejemplo, agua, amortiguador de fosfato, acetato de amonio, amortiguador de citrato en una concentración de 0 a 0,5 M, y ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético o todos los ácidos disponibles comercialmente conocidos por las personas con experiencia, preferiblemente en una concentración de 0 a 1%. En el caso de soluciones acuosas amortiguadas, se prefiere particularmente 0,1% de acetato de amonio.

La cromatografía se hace con un gradiente que comienza con 100% de agua y termina con 100% de solvente, preferiblemente llevando un gradiente lineal de 20 a 100% de propanol o acetonitrilo.

Una posibilidad alternativa es también efectuar una cromatografía de gel o una cromatografía en fases hidrofóbicas.

La cromatografía de gel se efectúa en gels de poliacrilamida o copolímeras tales como por ejemplo Biogel-P 2® (de Biorad) o Fractogel TSK HW 40® (de Merck, Alemania, o Toso Haas, EUA).

La secuencia de las cromatografías arriba mencionadas se puede invertir.

Los compuestos de la invención son estables en estado sólido y en soluciones de pH entre 3 y 8, en particular entre 5 y 7, y pueden así ser incorporadas en preparaciones farmacéuticas convencionales.

Uno o varios de los compuestos de la invención so apropiados, debido a los valores de sus propiedades farmacológicas, para uso como medicamento en medicina humana o veterinaria.

La presente invención se refiere entonces al uso del compuesto de la fórmula I o de una sal de éste tolerada fisiológicamente para producir un citostático para el tratamiento de enfermedades tumorales.

La presente invención se refiere además a todos los equivalente químicos obvios de los compuestos de la fórmula I de la invención. Tales equivalentes son compuestos que muestran una leve diferencia química, es decir que tienen el mismo efecto o que son convertidos bajo condiciones benignas en los compuestos de la invención. Dichos equivalente también incluyen, por ejemplo, sales, productos de reducción, ésteres, éteres, acetales o amidas de los compuestos de la invención y equivalente que la persona con experiencia puede preparar mediante métodos estándar, y además todas las antípodas ópticas, diastereómeros y todas las formas estereoméricas.

Sales fisiológicamente toleradas de los compuestos de la fórmula I significa tanto sales orgánicas como sales inorgánicas de dichos compuestos, tal como se describe en Remington, Pharmaceutical Science (17ª Edición, página 1418(1985)). Debido a la estabilidad física y química y a la solubilidad se prefieren como grupos ácidos las sales de sodio, potasio, calcio y amonio, entre otras; grupos básicos preferidos son, entre otros, las sales de ácido hidroc্লórico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico o ácidos carboxílicos o sulfónicos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico y ácido p-toluenosulfónico.

Los ésteres, éteres y acetales pueden ser preparados por métodos descritos en la literatura, por ejemplo en Advanced Organic Synthesis, 4ª Edición, J. March, John Wiley & Sons, 1992, o Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª Edición, T.W. Greene & P.G.M. Wuts, John Wiley & Sons, 1999.

El grupo carboxilo puede ser reducido, por ejemplo, al alcohol con LiAlH_4 .

Es posible inicialmente eliminar la mitad glicósido de compuesto de la fórmula I mediante hidrólisis alcalina (W. Weber y colaboradores, *J. Antibiotics*, 47, 1188-1194). Es posible entonces introducir mediante glicosilación (por ejemplo reacción Königs-Knorr) los residuos de azúcar deseados. Los métodos correspondientes se describen en la literatura, por ejemplo en *Carbohydrate Chemistry*, J.F.Kennedy, Oxford University Press, 1988.

Se desconoce el mecanismo de acción de los derivados de caloporosido, pero fue detectable un efecto significativo.

Los inhibidores de las CDKs se detectan usando una prueba en la que se mide la cantidad de fosforilación de un sustrato péptido específico por parte de las cinasas dependientes de ciclina. Las cinasas dependientes de ciclina son activadas mediante el enlace a la ciclina particular. $[\gamma\text{-P}]$ -fosfato se transfiere de $[\gamma\text{-P}]$ -ATP al sustrato péptido mediante la enzima. La prueba se efectúa en placas microlitro 96 pozos: se mide la radioactividad del $[\gamma\text{-P}]$ -fosfato transferido.

En la Tabla 1 se indican los valores IC_{50} para los derivados de caloporosido; es la concentración que inactiva 50% la CDK-4

Caloporosido B	15 μM
Caloporosido C	3,1 μM
Caloporosido D	1,8 μM
Caloporosido E	1,8 μM
Caloporosido F	1,5 μM

La presente invención se refiere además a medicamentos con un contenido de por lo menos un compuesto de la invención.

Uno o varios compuestos de los derivados de caloporosido de la invención pueden ser en principio administrados como tales sin diluyente. El uso preferido es en mezcla con excipientes o material vehículo apropiados. El material vehículo que se puede usar es los materiales vehículos y/o excipientes que son farmacológicamente apropiados y usuales en medicamentos.

Los medicamentos de la invención se administran por lo general oral o parenteralmente, pero también es posible en principio el uso rectal. Formulaciones farmacéuticas sólidas o líquidas apropiadas son, por ejemplo, gránulos, polvos, tabletas (recubiertas), (micro)cápsulas, supositorios, jarabes, emulsiones, suspensiones, aerosoles, gotas o soluciones inyectables en forma de ampollita y productos con liberación prolongada de la sustancia activa, para la preparación de los cuales se usan normalmente vehículos y aditivos y/o adyuvantes tales como desintegrantes o aglomerantes, agentes de recubrimiento, agentes hinchantes, agentes deslizantes o lubricantes, sabores, endulzantes o solubilizantes. Vehículos o excipientes frecuentemente usados que se pueden mencionar son, por ejemplo, carbonato de magnesio, dióxido de titanio, lactosa, manitol y otros azúcares, talco, proteína de leche, gelatina, almidón, vitaminas, celulosa y sus derivados, aceites animales o vegetales, polietileno glicoles y solventes tales como, por ejemplo, agua esterilizada, alcoholes, glicerol y alcoholes polihídricos.

Las unidades de dosis para administración oral pueden ser eventualmente microencapsuladas con el fin de retardar la liberación o de extenderla durante un período mayor, por ejemplo recubriendo o incrustando la sustancia activa en forma de partícula en apropiados polímeros, ceras o similares.

Los productos farmacéuticos son preferiblemente producidos y administrados en unidades de dosis, conteniendo cada unidad como ingrediente activo una dosis particular de uno o varios compuestos de los derivados de caloporosido de la invención. En el caso de unidades de dosis sólidas tales como tabletas, cápsulas y supositorios esta dosis puede ser de hasta aproximadamente 500 mg, pero preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 200 mg, y en el caso de soluciones para inyección en ampolla de hasta aproximadamente 200 mg, pero preferiblemente de aproximadamente 0,5 a 100 mg por día.

La dosis diaria a ser administrada depende del peso corporal, edad, sexo y condiciones del mamífero. No obstante, bajo ciertas circunstancias, pueden ser apropiadas también dosis mayores o menores. La administración de la dosis diaria puede efectuarse mediante una única administración en forma de una única unidad de dosis o también en una pluralidad de unidades de dosis más pequeñas y mediante administración múltiple de dosis divididas a intervalos determinados.

Los medicamentos de la invención se producen convirtiendo uno o varios de los compuestos de la invención en una forma apropiada de dosis con vehículos convencionales y, eventualmente, con aditivos y/o excipientes.

La invención se explica adicionalmente con los ejemplos que siguen. Los datos percentuales se basan en peso. Las proporciones de mezcla de líquidos se basan en volumen a menos que se indique otra cosa distinta.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de un cultivo en glicerol de *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784

100 ml de solución nutriente (extracto de malta 2%, extracto de levadura 0,2%, glucosa 1,0%, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,05%, pH 6,0) en un matraz Erlenmeyer de 300 ml esterilizado se incuban con la ce-

pa *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, a 25°C y 140 rpm en un agitador rotativo durante 7 días. Entonces se diluyen 1,5 ml de este cultivo con 2,5 ml de glicerol al 80% y se almacenan a -135°C.

Ejemplo 2: Preparación de un precultivo de *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 en un matraz Erlenmeyer

30 ml de solución nutriente (extracto de malta 2%, extracto de levadura 0,2%, glucosa 1,0%, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,05%, pH 6,0) en un matraz Erlenmeyer de 300 ml esterilizado se inoculan con la cepa *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, y se incuban a 25°C y 140 rpm en un agitador rotativo durante 4 días. Entonces se usan porciones de 2 ml de este precultivo para inocular las placas para preparar los cultivos principales.

Ejemplo 3: Preparación de un cultivo principal de *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784 en placas de medio sólido

Sobre placas de 25x25 cm (de Nunc) esterilizadas se vierten 200 ml de la siguiente solución nutriente: 20 gr/lt de extracto de malta, 2 gr/lt de extracto de levadura, 10 gr/lt de glucosa y 0,5 gr/lt de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, pH 6,0. Cada una de estas placas fue inoculada con 2 ml de un precultivo. La máxima producción de uno o varios de los compuestos de la invención se alcanza después de aproximadamente 480 horas.

Ejemplo 4: Producción de derivados de caloporosido

Se prepararon 50 placas de 25x25 cm y se inocularon con un precultivo:

Medio nutriente: 20 gr/lt de extracto de malta; 2 gr/lt de extracto de levadura; 10 gr/lt de glucosa; 0,5 gr/lt de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, pH 6,0 (antes de la esterilización), tiempo de incubación: 480 horas; temperatura de incubación: 25°C.

Ejemplo 5: Aislamiento de la mezcla de caloporosidos de la placa de cultivo de de *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784

Luego de completar la fermentación de *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, los cultivos de placa obtenidos según el Ejemplo 3 se liofilizan y el producto liofilizado se extrae con 5 litros de metanol. La solución metanólica que contiene sustancia activa se filtra para eliminar el residuo y se concentra al vacío. El concentrado se diluye con agua y se carga en una columna preparada de 1,0 litro MCI GEL, CHP20P. La elución se hace con un gradiente de agua a 100% de acetonitrilo. El flujo de la columna (25 ml por minuto) se recoge en fracciones (25 ml cada una) y las fracciones que contienen derivados de caloporosido (de 40% a 100% de acetonitrilo) se combinan. La concentración al vacío y la subsiguiente liofilización producen 8,5 gr de un polvo amarillo pardo.

Ejemplo 6: Separación preliminar de los derivados de caloporosido mediante cromatografía RP18

0,5 gr del producto obtenido en el Ejemplo 4 se cargan en una columna Nucleosil® 100-7 C18 HD (tamaño: 40 mm x 250 mm). La elución se hace con un gradiente de 20% acetonitrilo (+ agua con adición de 0,1% de acetato de amonio) a 100% acetonitrilo con una cantidad de flujo de 35 ml por minuto. El flujo de salida de la columna se recoge en fracciones (35 ml). Los derivados de caloporosido están presentes principalmente en las fracciones 39 a 68. Ellos se combinan, se liberan del solvente al vacío y después se liofilizan. Esto resultó en caloporosido B (22,4 mg) y caloporosido F (10,5 mg) ya >95% puros. El caloporosido C (fracción 41; 43,4 mg), el caloporosido D (fracción 43-45; 76,2 mg) y el caloporosido E (fracción 43-45; 76,2 mg) se obtuvieron aproximadamente 70% puros y por consiguiente se purificaron adicionalmente mediante cromatografía.

Ejemplo 7: Purificación de los caloporosidos C, D y E

20 mg del caloporosido C aislados y concentrados según el Ejemplo 5 se cargan en una columna LUNA® 5µ C18(2) (tamaño: 10 mm x 250 mm) y son sometidos a cromatografía con un gradiente de 25 a 35% acetonitrilo en 0,1% de acetato de amonio/agua. El flujo del eluyente es 6,5 ml por minuto y el tamaño de fracción 6,5 ml. El caloporosido C está presente en las fracciones 35 a 42. La liofilización de dichas fracciones produce caloporosido C (7,5 mg) >95% puro.

25 mg del caloporosido D y E aislados y concentrados según el Ejemplo 5 se cargan en una columna LUNA® 5µ C18(2) (tamaño: 10 mm x 250 mm) y son sometidos a cromatografía con un gradiente de 30 a 40% acetonitrilo en 0,1% de acetato de amonio/agua. El flujo del eluyente es 6,5 ml por minuto y el tamaño de fracción 6,5 ml. El caloporosido D está presente en las fracciones 18 y 19 y el caloporosido E está presente en las fracciones 20 a 21. La liofilización de dichas fracciones produce caloporosido D (7, mg) y caloporosido E (6,0 mg) >95% puros.

Las propiedades fisico-químicas y espectrocópicas de las sustancias de la invención se pueden resumir así:

Caloporosido B:

Fórmula molecular: $C_{38}H_{62}O_{16}$

peso molecular: 774,9

UV máxima: 208,244,310

^1H - y ^{13}C -NMR: ver Tabla 2

El espectro de masa FAB de alta resolución muestra un intenso MH^+ a m/z 775,4120 Da, en buena correspondencia con la masa calculada (para $C_{38}H_{63}O_{16}$, monoisotópico) de 775,4116 Da.

Caloporosido C:

Fórmula molecular: $C_{43}H_{66}O_{20}$

peso molecular: 902,99

UV máxima: 208,244,310

^1H - y ^{13}C -NMR: ver Tabla 3

El espectro de masa FAB de alta resolución muestra un intenso

M+H⁺ a m/z 903,4264 Da, en buena correspondencia con la masa calculada (para C₃₆H₇₁O₂₅, monoisotópico) de 903,4284 Da.

Caloporosido D:

Fórmula molecular: C₄₁H₆₄O₁₉

peso molecular: 860,96 .

UV máxima: 208,244,310

¹H- y ¹³C-NMR: ver Tabla 4

El espectro de masa FAB de alta resolución muestra un intenso M+Na⁺ a m/z 883,3942 Da, en buena correspondencia con la masa calculada (para C₄₁H₆₄O₁₉Na, monoisotópico) de 883,3939 Da.

Caloporosido E:

Fórmula molecular: C₄₁H₆₄O₁₉

peso molecular: 860,96

UV máxima: 208,244,310

¹H- y ¹³C-NMR: ver Tabla 4

El espectro de masa FAB de alta resolución muestra un intenso M+Na⁺ a m/z 883,3942 Da, en buena correspondencia con la masa calculada (para C₄₁H₆₄O₁₉Na, monoisotópico) de 883,3939 Da.

Caloporosido F:

Fórmula molecular: C₃₈H₆₂O₁₆

peso molecular: 774,9

UV máxima: 208,244,310

¹H- y ¹³C-NMR: ver Tabla 5

El espectro de masa FAB de alta resolución muestra un intenso M+H⁺ a m/z 775,4128 Da, en buena correspondencia con la masa calculada (para C₃₈H₆₃O₁₆, monoisotópico) de 775,4116 Da.

Tabla 2: Desplazamientos químicos ^1H y ^{13}C de caloporosido B en metanol- d_4 y DMSO- d_6 a 300K

	DMSO	MeOD	DMSO	MeOD
1	-	-	171.24	a)
2	-	-	a)	a)
3	-	-	162.22	163.57
4	6.68	6.77	115.28	116.81
5	7.17	7.25	~131.6	b
6	6.57	6.67	121.02	~123.0
7	-	-	137.90	139.57
8	a)	a)	a)	a)
9	a)	a)	a)	a)
10-20	1.30-1.20	1.32-1.27	29.01-28.69	30.76-30.47
21	1.30	1.38/1.32	24.81	26.52
22	1.54/1.45	1.65/1.52	35.31	37.00
23	4.81	4.95	70.04	73.09
24	1.15	1.24	19.69	20.22
1'	-	-	173.43	175.35
2'	3.95	4.13	70.89	72.97
3'	3.95	4.17	70.04	71.59
4'	3.54	3.82	67.96	69.80
5'	3.65	3.86	78.94	80.12
6'	3.74/3.44	3.90/3.69	62.11	63.25
1''	4.53	4.71	100.27	101.34
2''	3.74	3.95	70.37	72.46
3''	3.22	3.44	73.67	75.30
4''	3.21	3.49	67.54	69.00
5''	3.04	3.22	77.15	78.23
6''	3.72/3.31	3.88/3.63	61.80	63.25
Ac-C'	-	a)	-	a)
Ac-Me	a)	a)	a)	a)

a) para estos protones/átomos de carbono no se observa ninguna señal en MeOD o DMSO (agregación).

Tabla 3: Desplazamientos químicos ^1H y ^{13}C de caloporosido C en metanol- d_4 y a 300K

	^1H	^{13}C
1	-	175.90
2	-	116.73
3	-	163.67
3-Ac-Me	a)	a)
3-Ac-C'	-	a)
4	6.73	116.73
5	7.16	$\sim 132.6^{\text{b)}$
6	6.55	123.53
7	-	139.51
8	2.49	43.06
9	1.53	24.75
10-20	1.36-1.26	30.78-30.62
21	1.38/1.33	26.54
22	1.65/1.52	37.02
23	4.95	73.04
24	1.24	20.22
1'	-	175.17
2'	4.17	72.82
3'	4.08	71.60
4'	3.71	69.79
5'	4.07	76.38
6'	4.60/4.14	66.43
7'	-	170.55
8'	$3.27^{\text{c)}$	~ 44.8
9'	-	173.12
1''	4.93	99.40
2''	5.33	73.40
3''	3.72	73.40
4''	3.42	69.34
5''	3.34	78.19
6''	3.89/3.62	63.11
2''-Ac-Me	2.11	21.17
2''-Ac-C'	-	172.56

a) Para estos núcleos no se observa ninguna señal (señal fuertemente ampliada)

b) Señal ampliada

c) La señal para los protones en la posición 8' se observa solamente en solución recién preparada (rápido intercambio con deuterio).

Tabla 4: Desplazamientos químicos ^1H y ^{13}C de caloporosido D y E en metanol- d_4 a 300K

	^1H caloporoside D	^{13}C caloporoside D	^1H caloporoside E	^{13}C caloporoside E
1	-	-	176.28	176.28
2	-	-	120.37	120.37
3	-	-	162.12	162.12
4	6.61	6.61	114.91	114.91
5	7.06	7.06	131.53	131.53
6	6.58	6.58	122.23	122.23
7	-	-	147.22	147.22
8	3.04	3.04	36.31	36.31
9	1.55	1.55	33.35	33.35
10-20	1.36-1.25	1.36-1.25	31.07/30.61	31.07/30.61
21	1.38/1.32	1.38/1.32	26.53	26.53
22	1.65/1.53	1.65/1.53	37.01	37.01
23	4.95	4.95	73.13 ^{a)}	73.07 ^{a)}
24	1.24	1.24	20.23	20.23
1'	-	-	175.18	175.40
2'	4.17	4.15	72.80	72.80
3'	4.08	4.15	71.61	71.53
4'	3.71	3.85	69.78	69.27
5'	4.07	4.08	76.40	77.07
6'	4.58/4.14	4.59/4.24	66.35	65.43
7'	-	-	-170.4	-170.4
8'	3.28	3.28	-45.0	-45.0
9'	-	-	-173.0	-173.0
1''	4.93	4.84	99.40	100.20
2''	5.33	4.03	73.41	70.27
3''	3.72	4.78	73.39	77.44
4''	3.42	3.71	69.32	66.35
5''	3.34	3.38	78.35	78.00
6''	3.91/3.62	3.89/3.65	63.09	62.96
2''/3''-Ac-Me	2.11	2.00	21.18	20.98
2''/3''-Ac-C'	-	-	172.59	172.36

^{a)} Estas señales no pueden ser asignadas sin ambigüedad

Tabla 5: Desplazamientos químicos ^1H y ^{13}C de caloporosido F en metanol- d_4 a 300K

	^1H	^{13}C
1	-	174.95
2	-	117.32
3	-	162.18
4	6.68	115.42
5	7.17	133.17
6	6.67	122.65
7	-	146.91
8	2.93	36.57
9	1.56	33.27
10-20	1.36-1.25	30.93-30.62
21	1.35	26.53
22	1.65/1.53	37.02
23	4.95	73.05
24	1.24	20.23
1'	-	175.15
2'	4.17	72.98
3'	4.09	71.73
4'	3.71	69.88
5'	3.85	79.59
6'	3.90/3.61	63.57
1''	4.88	99.76
2''	5.37	73.52
3''	3.63	73.56
4''	3.46	64.27
5''	3.28	78.33
6''	3.91/3.63	63.06
Ac-C ¹	-	173.03
Ac-Me	2.13	21.21

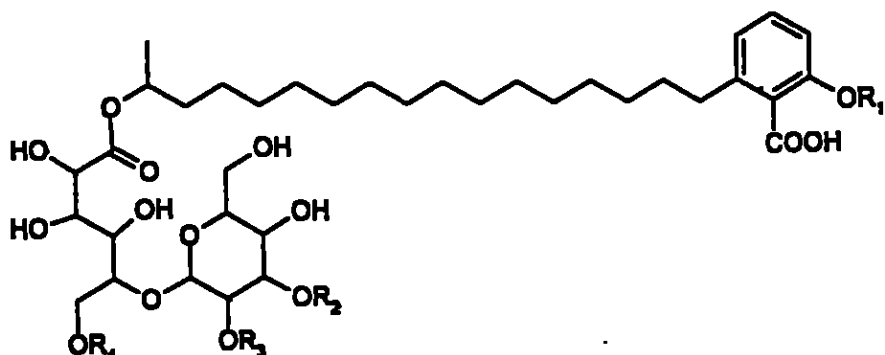
Ejemplo 8: Bioensayo para los inhibidores CDK-4

Para determinar el IC_{50} se preparan soluciones matrices de las sustancias naturales de la invención en una concentración de 10 mM. Placas Flash de 384 pozos se recubren con 50 μ l (50 μ g/pozo) de sustrato péptido biotinilado a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se lavan 3x con amortiguador PBS. Para la reacción se pipetea sobre las placas 30 μ l de una solución diluida amortiguadora de los derivados de caloposido y 20 μ l de una solución premezclada de ATP/ciclinaD1/CDK4 (concentración final: 1 μ Ci 33P- γ -ATP, 2 μ M ATP y 1 μ g mezcla de enzimas). Después de la reacción a 37° durante 2 horas, las placas se lavan 3x con 80 μ l de ácido fosfórico cada vez y luego se miden con un contador MicroBeta durante 30 segundos. La determinación del porcentaje de inhibición se efectúa con la ayuda de ecuaciones matemáticas. Para la determinación de los valores IC_{50} se someten a prueba 10 concentraciones de solución DMSO recién diluida de las sustancias de la invención.

69

Reivindicaciones de patente

1. Un compuesto de la fórmula I



en la cual

R_1 , R_2 y R_3 independientemente uno del otro son H o radicales acilo que tienen 2-10 átomos de carbono; y

R_4 es H o $-C(O)(CH_2)_nCOOH$, en donde n es 1 a 7;

con la excepción de que R_1 , R_2 , R_3 y R_4 no son todos H;

y sus sales de fisiológicamente tolerados

2. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R_1 , R_2 , R_3 independientemente uno del otro son H o acetilo; y

R_4 es H o malonilo ($n = 1$);

y sus sales fisiológicamente toleradas.

3. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el cual

R_1 es acetilo, R_2 , R_3 y R_4 son H;

y sus sales fisiológicamente toleradas.

4. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la cual

R_1 y R_3 son acetilo;

R_2 es H; y

R_4 es malonilo;

y sus sales fisiológicamente toleradas.

5. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la cual

21
60

R_1 y R_2 son H;

R_3 es acetilo; y

R_4 es malonilo;

y sus sales fisiológicamente toleradas.

6. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la cual

R_1 y R_3 son H;

R_2 es acetilo; y

R_4 es malonilo;

y sus sales fisiológicamente toleradas.

7. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la cual

R_1 , R_2 y R_4 son H; y

R_3 es acetilo;

y sus sales fisiológicamente toleradas.

8. Un compuesto de la fórmula I o una sal de él tolerada fisiológicamente de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 7, el cual puede ser preparado mediante fermentación del microorganismo *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, o de una de sus variantes o mutantes bajo condiciones apropiadas, aislamiento de uno o varios de los derivados de caloporosido y eventualmente ellos son convertidos en sales fisiológicamente toleradas.

9. Procedimiento para la preparación de un compuesto de la fórmula I o de una sal de él fisiológicamente tolerada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1-7, caracterizado por que el microorganismo *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784, o de una de sus variantes o mutantes se fermentan bajo condiciones apropiadas, uno o varios derivados de caloporosido se aíslan y eventualmente ellos son convertidos en sales fisiológicamente toleradas.

BT

10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque la fermentación se lleva a cabo bajo condiciones aeróbicas a una temperatura entre 18 y 35°C y a un pH entre 5 y 8.

11. Compuesto de la fórmula I o una sal de él fisiológicamente tolerada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1-8 para uso como medicamento.

12. Compuesto de la fórmula I o una sal de él fisiológicamente tolerada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1-8 para uso como inhibidor de CDK.

13. Uso de un compuesto de la fórmula I o de una sal de él fisiológicamente tolerada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1-8 para la preparación de medicamentos para el tratamiento de cáncer y otras enfermedades con una perturbación patológica de la proliferación celular.

14. Medicamento con un contenido de por lo menos un compuesto de la fórmula I o una sal de él fisiológicamente tolerada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1-8.

15. Procedimiento para la preparación de medicamentos de acuerdo con la reivindicación 14, caracterizado porque al menos un compuesto de la fórmula I o una sal de él fisiológicamente tolerada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1-8 se convierte en una forma de dosis apropiada con excipientes y/o vehículos apropiados.

16. El microorganismo *Gloeoporus dichrous* (Fr.:Fr.) Bres. ST001714, DSM 13784.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2001/0016	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP02/01916	International filing date (day/month/year) 23 February 2002 (23.02.02)	Priority date (day/month/year) 09 March 2001 (09.03.01)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/70		
Applicant AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>2</u> sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I ☒ Basis of the report II ☐ Priority III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 26 September 2002 (26.09.02)	Date of completion of this report 09 October 2002 (09.10.2002)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP02/01916

63

I. Basis of the report

The basis of international preliminary examination report is the application as originally filed.

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability

In light of the documents cited in the international search report, it is considered that the invention as defined in the claims meets the criteria mentioned in Article 33(1) PCT, i.e. it appears to be novel and to involve an inventive step.

**TRATADO SOBRE LA COOPERACION INTERNACIONAL
EN EL AREA DE PATENTES**

PCT

REPORTE DEL EXAMEN INTERNACIONAL PROVISIONAL

(Artículo 36 y Norma 70 PCT)

Referencia del solicitante o abogado: 2001/0016

PROCEDIMIENTO ADICIONAL: Ver Comunicación sobre el envío del reporte de examen internacional provisional (Formato PCT/IPEA/416)

No. de referencia internacional: PCT/EP 02/01916

Fecha de solicitud internacional: 23 Febrero 2002

Fecha de prioridad: 09.Marzo 2001

Clasificación Internacional de Patentes (IPK) o Clasificación Nacional e IPK: A61K 31/70

Solicitante: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH

1. La autoridad encargada del examen internacional provisional elaboró el reporte del examen internacional provisional y lo envió al solicitante de conformidad con el Artículo 36
2. Este REPORTE comprende en total 2 hojas incluyendo esta hoja de cubierta

— Además se adjuntan a este reporte ANEXOS; se trata de hojas con descripciones, reivindicaciones y/o dibujos que fueron modificados y son fundamento de este reporte, y/u hojas con correcciones efectuadas por esta autoridad (ver Norma 70.16 y Sección 607 de las Pautas Administrativas del PCT).

Estos Anexos comprenden en total hojas.

3. Este reporte contiene informaciones y las correspondientes páginas respecto a los siguientes puntos:
 - I ☒ Base del reporte
 - II ☐ Prioridad
 - III ☐ Ninguna elaboración de un reporte sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial
 - IV ☐ Falta de unidad de la invención
 - V ☒ Verificación fundamentada conforme el artículo 35(2) respecto a la novedad, la actividad inventiva y la

67
69

aplicabilidad industrial; documentos y explicaciones
para apoyar dicha verificación

- VI _ Determinados documentos citados
- VII _ Determinadas deficiencias de la solicitud internacional
- VIII _ Determinadas observaciones a la solicitud internacional

Fecha de entrega de la solicitud:

26 Septiembre 2002

Fecha de elaboración de este reporte:

09 Octubre 2002

Nombre y dirección postal de la autoridad encargada del examen in-
ternacional de provisional:

Funcionario autorizado:

REPORTE DEL EXAMEN INTERNACIONAL PROVISIONAL

No. de referencia internacional PCT/EP02/01916

I. Base del reporte

La base de este reporte del examen preliminar internacional es la solicitud tal cual fue presentada originalmente

V. Constatación fundamentada según Norma 66.2(a)(ii) respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial

A la luz de los documentos citados en el reporte de búsqueda internacional, se considera que la invención tal como está definida en las reivindicaciones cumple con los criterios mencionados en el Artículo PCT 33(1), es decir parece ser novedosa e involucrar actividad inventiva.

PCT
ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 0 2 / 0 1 9 1 6

Internationales Anmeldedatum

(20.02) 23 FEB 2002

EUROPEAN PATENT OFFICE
PCT INTERNATIONAL APPLICATION

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) 2001/0016

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Caloporosid-Derivate, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.).

Aventis Pharma Deutschland GmbH
Brüningstraße 50
65929 Frankfurt
Germany

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefax.: (069) 305-7100

Telefax.: 069-357175

Fernschreiber:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☒ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

EDER, Claudia
Flörsheimer Str. 7
65719 Hofheim
Deutschland

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☒ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ Alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☐ Anwalt

☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Aventis Pharma Deutschland GmbH
Patent- und Lizenzabteilung
Industriepark Höchst, Geb. K 801
65926 Frankfurt
Deutschland

Telefax.:
(069) 305-7100

Telefax.: 069-357175

Fernschreiber:

☒ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

KURZ, Michael
Erlenweg 7
85719 Hofheim
Deutschland

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☐ Anmelder und Erfinder
- ☒ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ Alle Bestimmungstaaten ☐ alle Bestimmungstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

BRÖNSTRUP, Mark
Musikantenweg 16
80316 Frankfurt
Deutschland

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☐ Anmelder und Erfinder
- ☒ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ Alle Bestimmungstaaten ☐ alle Bestimmungstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

TOTI, Luigi
Frankfurter Straße 5
65239 Hochheim
DEUTSCHLAND

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☐ Anmelder und Erfinder
- ☒ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ Alle Bestimmungstaaten ☐ alle Bestimmungstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
- ☐ Anmelder und Erfinder
- ☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

- ☐ Alle Bestimmungstaaten ☐ alle Bestimmungstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN Bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; weigert man sich, einen Kästchen zu markieren, so ist dies anzugeben.

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen:

Regionales Patent

- ☒ **AP** ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mosambik, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swasiland, TZ Vereinigte Republik Tansania, UG Uganda, ZM Sambia, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)
- ☒ **EA** Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **EP** Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH & LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden, TR Türkei und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **OA** OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GQ Äquatorialguinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben) **GQ**

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | | |
|---|--|---|
| ☒ AE Vereinigte Arabische Emirate | ☒ GM Gambia | ☒ NZ Neuseeland |
| ☒ AG Antigua und Barbuda | ☒ HR Kroatien | ☒ OM Oman |
| ☒ AL Albanien | ☒ HU Ungarn | ☒ PH Philippinen |
| ☒ AM Armenien | ☒ ID Indonesien | ☒ PL Polen |
| ☒ AT Österreich | ☒ IL Israel | ☒ PT Portugal |
| ☒ AU Australien | ☒ IN Indien | ☒ RO Rumänien |
| ☒ AZ Aserbaidschan | ☒ IS Island | ☒ RU Russische Föderation |
| ☒ BA Bosnien-Herzegowina | ☒ JP Japan | |
| ☒ BB Barbados | ☒ KE Kenia | ☒ SD Sudan |
| ☒ BG Bulgarien | ☒ KG Kirgisistan | ☒ SE Schweden |
| ☒ BR Brasilien | ☒ KP Demokratische Volksrepublik Korea | ☒ SG Singapur |
| ☒ BY Belarus | ☒ KR Republik Korea | ☒ SI Slowenien |
| ☒ BZ Belize | ☒ KZ Kasachstan | ☒ SK Slowakei |
| ☒ CA Kanada | ☒ LC Saint Lucia | ☒ SL Sierra Leone |
| ☒ CH & LI Schweiz und Liechtenstein | ☒ LK Sri Lanka | ☒ TJ Tadschikistan |
| ☒ CN China | ☒ LR Liberia | ☒ TM Turkmenistan |
| ☒ CO Kolumbien | ☒ LS Lesotho | ☒ TN Tunesien |
| ☒ CR Costa Rica | ☒ LT Litauen | ☒ TR Türkei |
| ☒ CU Kuba | ☒ LU Luxemburg | ☒ TT Trinidad und Tobago |
| ☒ CZ Tschechische Republik | ☒ LV Lettland | |
| ☒ DE Deutschland | ☒ MA Marokko | ☒ TZ Vereinigte Republik Tansania |
| ☒ DK Dänemark | ☒ MD Republik Moldau | ☒ UA Ukraine |
| ☒ DM Dominica | | ☒ UG Uganda |
| ☒ DZ Algerien | ☒ MG Madagaskar | ☐ US Vereinigte Staaten von Amerika |
| ☒ EC Ecuador | ☒ MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | |
| ☒ EE Estland | ☒ MN Mongolei | ☒ UZ Usbekistan |
| ☒ ES Spanien | ☒ MW Malawi | ☒ VN Vietnam |
| ☒ FI Finnland | ☒ MX Mexiko | ☒ YU Jugoslawien |
| ☒ GB Vereinigtes Königreich | ☒ MZ Mosambik | ☒ ZA Südafrika |
| ☒ GD Grenada | ☒ NO Norwegen | ☒ ZM Sambia |
| ☒ GE Georgien | | ☒ ZW Simbabwe |
| ☒ GH Ghana | | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten, die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind.

- ☒ **GQ** Äquatorial-Guinea ☐
- ☐

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung (einschließlich der Gebühren) muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist der frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung:* regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile(1) 9. March 2001 09.03.2001	10111682.9	DE		
Zeile(2)				
Zeile(3)				

☐ Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)

* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA)
(falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchen-
behörden für die Ausführung der internationalen Recherche
zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an;
der Zweitschreibungs-Code kann benutzt werden):

ISA /

Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche: Bezugnahme auf diese frühere
Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder
von ihr durchgeführt worden ist):

Datum (Tag/Monat/Jahr):

Aktenzeichen: Staat(oder regionales Amt):

Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält
die folgende Anzahl von Blättern:

Antrag 4
Beschreibung(ohne
Sequenzprotokollteil): [25] 25
Ansprüche: 4
Zusammenfassung: 1
Zeichnungen:
Sequenzprotokollteil
der Beschreibung
Blattzahl insgesamt: [24] 35

Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- ☒ Blatt für die Gebührenberechnung
- ☐ Gesonderte unterzeichnete Vollmacht
- ☐ Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):
- ☐ Begründung für das Fehlen einer Unterschrift
- ☒ Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch
folgende Zeilennummer gekennzeichnet:
- ☐ Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:
- ☒ Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen
Material
- ☐ Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerisierbarer Form
- ☐ Sonstige (einzeln auflühren):

Abbildung der Zeichnungen, die
mit der Zusammenfassung
veröffentlicht werden soll (Nr.):

Sprache, in der die
internationale Anmeldung
eingereicht wird:

Deutsch

Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem
Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

Aventis Pharma Deutschland GmbH

Dr. Jacobi

Dr. Wehn

Vom Anmeldeamt auszufüllen		23 FEB 2002	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	(23.02.02)	2. Zeichnungen	☐ einge- gangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:			☐ nicht ein- gegangen:
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:		6. ☐ Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchengebühr aufgeschoben	
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind):	ISA/		

Vom Internationalen Büro auszufüllen	
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:	

Solicitud PCT

El suscrito solicita que
la presente solicitud internacional
sea tratada de conformidad con el Acuerdo sobre
Cooperación Internacional en el Area de Patentes

Número de referencia internacional: PCT/EP 02/01916

Fecha de solicitud internacional: 23 Febrero 2002

Nombre de la oficina receptora

y "solicitud PCT internacional": OFICINA EUROPEA DE PATENTES
SOLICITUD INTERNACIONAL PCT

Número de referencia del solicitante o del abogado: 2001/0016

CAMPO No. I TITULO DE LA INVENCION

Derivados de caloporosido, procedimiento para prepararlos y
uso de ellos

CAMPO No. II SOLICITANTE

Nombre y dirección:

*(Apellido, nombre; en el caso de personas jurídicas nombre
ficial completo. En la dirección hay que indicar el código
postal y el nombre del país. El país indicado en este campo es
el país del domicilio del solicitante si a continuación no se
indica ningún país del domicilio.).*

Aventis Pharma Deutschland GmbH

Brünningsstrasse 50

D-65929 Frankfurt

Alemania

Nacionalidad (país): Alemania (DE)

Domicilio (país): Alemania (DE)

Esta persona es solicitante para los siguientes países: todos
los países de la designación.

Campo No. III OTROS SOLICITANTES Y/U (OTROS) INVENTORES

Nombre y dirección:

(Apellido, nombre; en el caso de personas jurídicas nombre oficial completo. En la dirección hay que indicar el código postal y el nombre del país. El país indicado en este campo es el país del domicilio del solicitante si a continuación no se indica ningún país del domicilio.)

EDER, Claudia

Flörsheimer Str. 7

65719 Hofheim

Alemania

Esta persona es: Unicamente inventor

Otros solicitantes y/u (otros) inventores se mencionan en una Hoja de continuación de este Campo.

Campo No. IV ABOGADO O REPRESENTANTE COLECTIVO;**DIRECCION POSTAL**

Nombre y dirección:

(Apellido, nombre; en el caso de personas jurídicas nombre oficial completo. En la dirección hay que indicar el código postal y el nombre del país.)

Aventis Pharma Deutschland GmbH

Departamento de Patentes y Licencias

Industriepark Höchst

Edificio K 801

D-65926 Frankfurt

Alemania

X Dirección postal: Hay que poner una X en esta casilla cuando no se ha nombrado un abogado o un representante colectivo y en lugar de ello se ha indicado una dirección postal particular en el campo anterior.

Continuación del**Campo No. III OTROS SOLICITANTES Y/U (OTROS) INVENTORES**

Nombre y dirección:

(Apellido, nombre; en el caso de personas jurídicas nombre

oficial completo. En la dirección hay que indicar el código postal y el nombre del país. El país indicado en este campo es el país del domicilio del solicitante si a continuación no se indica ningún país del domicilio.)

KURZ, Michael

Erlenweg 7

65719 Hofheim

Alemania

Esta persona es: Unicamente inventor

Nombre y dirección:

(Apellido, nombre; en el caso de personas jurídicas nombre oficial completo. En la dirección hay que indicar el código postal y el nombre del país. El país indicado en este campo es el país del domicilio del solicitante si a continuación no se indica ningún país del domicilio.)

BRÖNSTRUP, Mark

Musikantesweg 16

60316 Frankfurt

Alemania

Esta persona es: Unicamente inventor

Nombre y dirección:

(Apellido, nombre; en el caso de personas jurídicas nombre oficial completo. En la dirección hay que indicar el código postal y el nombre del país. El país indicado en este campo es el país del domicilio del solicitante si a continuación no se indica ningún país del domicilio.)

Nombre y dirección:

TOTI, Luigi

Frankfurter Straße 5

65239 Hochheim

Alemania

Esta persona es: Unicamente inventor

Campo No. V DESIGNACION DE PAISES

Se hacen las siguientes designaciones de conformidad con la norma 4.9 inciso a:

26
24

Patente regional:

AP: Patente Aripo: GH Gana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mozambique, SD Sudán, SL Sierra Leone, SZ Swazilandia, TZ República Unida de Tanzania, UG Uganda, ZW Zimbabwe y todo otro país que sea país miembro del Protocolo de Harare y país contratante del PCT

EA: Patente Eurasia: AM Armenia, AZ Aserbayán, BY Belarus, KG Kirguistán, KZ Kazajstán, MD República Moldavia, RU Federación Rusa, TJ Tayikistán, TM Turkmenistán y todo otro país que sea país miembro del Acuerdo de Patentes de Eurasia y país contratante del PCT

EP: Patente Europea: AT Austria, BE Bélgica, CH&LI Suiza y Liechtenstein, CY Chipre, DE Alemania, DK Dinamarca, ES España, FI Finlandia, FR Francia, GB Reino Unido, GR Grecia, IE Irlanda, IT Italia, LU Luxemburgo, MC Mónaco, NL Países Bajos, PT Portugal, SE Suecia, TR Turquía y todo otro país que sea país miembro del Acuerdo de Patentes Europeas y país contratante del PCT

OA: Patente OAPI: BF Burkina Fasso, BJ Benin, CF República Centroafricana, CG Congo, CI Costa de Marfil, CM Camerún, GA Gabón, GN Guinea, GW Guinea Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NR Nigeria, SN Senegal, TD Chad, TG Togo y todo otro país que sea país miembro del OAPI y país contratante del PCT (en el caso de que se desee otro tipo de protección legal u otro procedimiento, por favor indicarlo a continuación) Gq.

Patente nacional

(en el caso de que se desee otro tipo de protección legal u otro procedimiento, por favor indicarlo a continuación del nombre del respectivo país):

AE Emiratos Arabes Unidos, AG Antigua y Bermuda, AL Albania, AM Armenia, AT Austria, AU Australia, AZ Aserbayán, BA Bosnia Herzegovina, BB Barbados, BG Bulgaria, BR Brasil, BY Belarus,

BZ Belice, CA Canada, CH & LI Suiza y Liechtestein, CN China, CO Colombia, CR Costa Rica, CU Cuba, CZ República Checa, DE Alemania, DK Dinamarca, DM Dominica, DZ Argelia, EC Ecuador, EE Estonia, ES España, FI Finlandia, GB Reino Unido, GD Grenada, GE Georgia, GH Ghana, GM Gambia, HR Croacia, HU Hungría, ID Indonesia, IL Israel, IN India, IS Islandia, JP Japón, KE Kenia, KG Kirguistán, KP República Democrática Popular de Corea, KR República de Corea, KZ Kasajstán, LC Santa Lucía, LK Sri Lanka, LR Liberia, LS Lesotho, LT Lituania, LU Luxemburgo, LV Letonia, MA Marruecos, MD República Moldavia, MG Madagascar, MK ex-República Yugoslava de Macedonia, MN Mongolia, MW Malawi, MX México, MZ Monzambique, NO Noruega, NZ Nueva Zelanda, OM Omán, PH Filipinas, PL Polonia, PT Portugal, RO Rumania, RU Federación Rusa, SD Sudán, SE Suecia, SG Singapur, SI Eslovenia, SK Eslovaquia, Sierra Leone, TJ Tayikistán, TM Turkmenistán, TN Tunez, TR Turquía, TT Trinidad y Tobago, TZ República Unida de Tanzania, UA Ucrania, UG Uganda, UZ Uzbekistán, VN Vietnam, YU Yugoslavia, ZA Suráfrica, ZM Zambia, ZW Zimbawe.

Casillas para la designación de países que han ingresado al PCT posteriormente a la publicación de este formato:

Aclaración respecto a las designaciones preventivas: Adicionalmente a las designaciones arriba mencionadas, el solicitante de conformidad con la norma 4.9 inciso b realiza todas las otras designaciones permisibles según el PCT, exceptuando las designaciones mencionadas en el Campo Adicional que están excluidas de esta aclaración. El solicitante declara que estas designaciones adicionales están bajo la reserva de una confirmación, y que toda designación adicional que no sea confirmada antes de 15 a partir de la fecha de la prioridad se considera retirada por el solicitante. *(La confirmación (incluyendo los honorarios) debe llegar a la Oficina Receptora antes del plazo de 15 meses.)*

Campo No. VI REIVINDICACION DE PRIORIDAD

Renglón (1)

Fecha de presentación de la anterior solicitud:

9 Marzo 2001

Número de referencia de la anterior solicitud: 10111682.9

Solicitud nacional: País Alemania (DE)

Campo No. VII AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Elección de la autoridad de búsqueda internacional (ISA):

(en el caso de que para la realización de la búsqueda internacional sean competentes más de dos autoridades de búsqueda internacional, entonces indique las autoridades elegidas por Usted; se puede utilizar el código de dos letras):

ISA /

Campo No. VIII LISTA DE CONTROL; IDIOMA DE PRESENTACION

Esta solicitud internacional contiene el siguiente número de páginas:

Solicitud: 4

Descripción (sin parte de protocolo de secuencia): 26

Revindicaciones: 4

Resumen: 1

Dibujos: -

Total de páginas: 35

A esta solicitud internacional se anexan los siguientes documentos:

1. ☒ Hoja para cálculo de honorarios
2. ☐ Poder firmado separado
3. ☐ Copia del poder general; número de referencia: 36963
4. ☐ Razón para la ausencia de una firma
5. ☒ Documentos de prioridad, identificados en el Campo No. VI por el siguiente número de línea:
6. ☐ Traducción de la solicitud internacional al siguiente idioma:
7. ☒ Datos separados respecto a microorganismos entregados

u otro material biológico entregado

8. _ Protocolo de las secuencias nucleótidas y/o de amino-ácidos en forma legible por computador
9. _ Otros (indicar individualmente):

Dibujo de figuras que deben publicarse con el resumen (No.): -

Idioma en que se presenta la solicitud internacional: Alemán

Campo No. IX FIRMA DEL SOLICITANTE O DEL ABOGADO

El nombre del signatario se ha de repetir al lado de la firma y, si ello no resulta evidente en la solicitud, se debe escribir la función que desempeña esta persona.

Aventis Pharma Deutschland GmbH

Dr. Jacobi (firma)

Dr. Wein (firma)

-----Para llenar por la Oficina receptora-----

1. Fecha efectiva de recibo de esta solicitud internacional:
23 Febrero 2002
2. Dibujos
_ Recibidos _ No recibidos
3. Fecha de recibo modificada por recibo posterior pero dentro del plazo establecido de documentos o dibujos para completar la solicitud internacional:
4. Fecha de recibo autorizado de las correcciones conforme al artículo 11(2) PCT:
5. Autoridad de búsqueda internacional (en caso de que sean competentes dos o más): ISA /
6. _ Envío del ejemplar de búsqueda aplazado hasta que se haya efectuado el pago de los honorarios de búsqueda

-----Para llenar por la Oficina Internacional-----

Fecha de recibo del ejemplar de las actas
en la Oficina Internacional:

80.
28

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

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

Firma Responsable:

ANDREA ROSSE

Fecha:



79
81

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor:
GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO
Apoderado
AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH

Oficio N° 10124

ASUNTO:	Radicación N°	03-77712
	Solicitud Internacional	PCT/EP2002/01916
	Fecha inicio fase nacional	08/10/2003
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- ☐ La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486).

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

21.03.2003

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha, _____.