

Q.F.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

04-107585

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO

DIETIRIDODIAZEPINONAS COMO INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA

INVERSA

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K31/55

71. SOLICITANTE

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

DOMICILIO

Ingelheim am Rhein, República Federal de Alemania.

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438,019 de Usaquén.

22. BOGOTA, D.C.,

26/10/2004.

[Handwritten signature]

[Handwritten circled "SS"]

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO

Radicación : 04107545 00000000

Folios: 132

Fecha (AMB): 2004-10-25 17:41:06

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL****SOLICITUD DE:****1**☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☐ Capítulo I.☒ Capítulo II.**2****SOLICITANTE
(71)**Nombre: **BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH**
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de la República Federal de Alemania.Dirección: **Binger Strasse 173,
55216 Ingelheim am Rhein,
República Federal de Alemania**
Domicilio: **Ingelheim am Rhein,
República Federal de Alemania****IDENTIFICACIÓN**C.C. ☐NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual _____

Número _____

3**REPRESENTANTE
APODERADO**Nombre: **EMILIO FERRERO**
Dirección: **Carrera 4ª. No. 72-35**
Teléfono: **347 36 11**
Fax: **211 86 50**
E-mail: **clientes@camyp.com.**
Domicilio: **Bogotá, Colombia.****IDENTIFICACIÓN**C.C. ☒NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual _____

Número **438.019** T.P **31.929****4****INVENTOR (ES)
(72)****1. Jeffrey O'MEARA**
2100 Cunard Street, Laval,
Québec H7S 2G5,
Canadá**3. Christiane YOAKIM**
2100 Cunard Street, Laval,
Québec H7S 2G5,
Canadá**5. William W. OGILVIE**
1999 Woodglen Crescent, Ottawa
Ontario K1J 6G7,
Canadá**2. Bruno SIMONEAU**
2100 Cunard Street, Laval,
Québec H7S 2G5,
Canadá**4. Robert DÉZIEL**
546 Chester, Mont-Royal,
Québec H3R 1W9,
Canadá**5****PCT (86)**Solicitud Internacional No. **PCT/CA03/00418**Fecha: **24 de Marzo de 2003**Publicación Internacional No. **WO 03/080612 A1**Fecha: **2 de Octubre de 2003****6****Título (54)****DIPIRIDODIAZEPINONAS COMO INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA****7****Clasificación Internacional (51) C07D 471/15****// A61K31/55.****8****Prioridad****(33) País de Origen****(32) Fecha****(31) Número de Solicitud**SI ☒ NO ☐**US****27 de Marzo de 2002****60/367.971****9****Comprobante de pago No.: 04-83.602****Fecha: 25 de octubre de 2004**

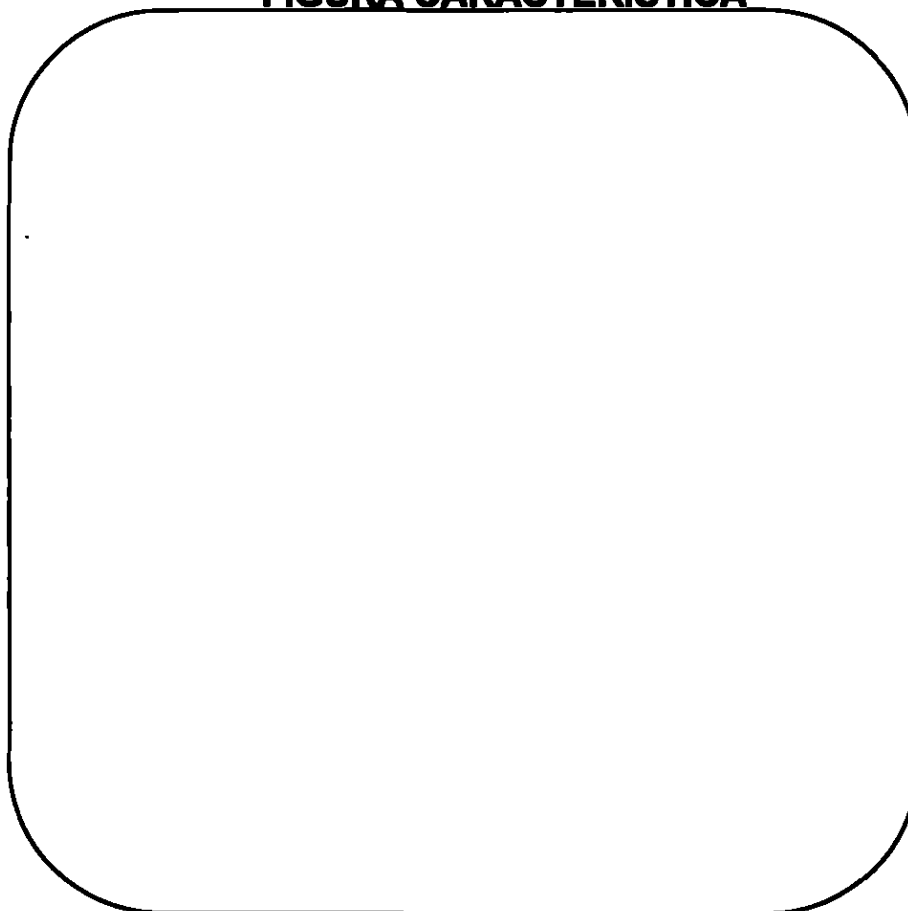
10

An xos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 422.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita 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 efectuado por la IPEA.
- ☒ Traducción del examen preliminar 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.
- ☐ Otros

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



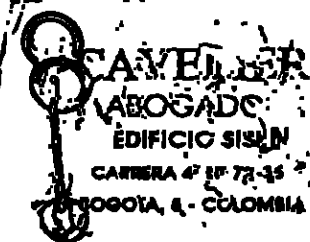
12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERREROFIRMA : 

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

PRP



For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.

Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

9255
0569

I (we), the undersigned /Yo (nosotros), abajo firmado (s)
BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

of/domiciliado (s) en D-55216 Ingelheim am Rhein,
GERMANY

por el presente nombramos a GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; y LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistír, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

In due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; and LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant power of attorney in favor of the above-named attorneys to act for us and to obtain the protection of my (our) industrial property, and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, especially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court; in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models, and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Ingelheim am Rhein, 12.12.1995

Given and signed this/Dado y firmado hoy

BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH

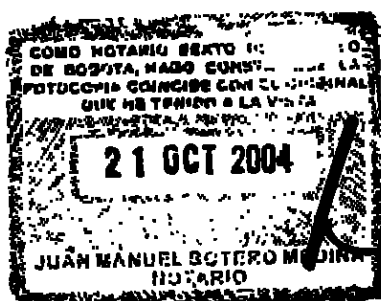
In/en
ppa. Dr. Dieter Laudien
Signature
ppa. Dr. Gerhard Huber
Firma

LEGALIZACION

El Señor Cónsul de Colombia debe expedir un *certificado consular* sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga el poder, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las personas que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A este efecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las pruebas que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

LEGALIZATION

The Colombia Consul must issue a *consular certificate*, on (1) the legal existence of the company which grants Power-of-Attorney, (2) that it is in actual exercise of company purposes, and (3) that the persons who execute the Power of Attorney is authorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).



NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.

Vorseitige, vor mir gefertigte Namensunterschriften der Herren:

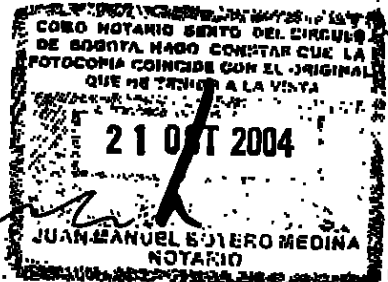
1. Dr. Dieter L a u d i e n, Dipl.-Chemiker, wohnhaft in 55127 Mainz.,
2. Dr. Gerhard H u b e r, Rechtsanwalt, wohnhaft in 55411 Bingen,

- mir bekannt -

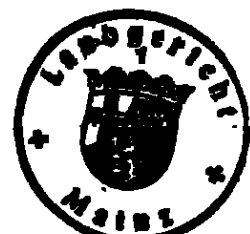
beglaubige ich hiermit.

Gleichzeitig bescheinige ich aufgrund heutiger Einsichtnahme in das Handelsregister des Amtsgerichts Bingen, daß die Firma Boehringer Ingelheim International GmbH mit Sitz in Ingelheim am Rhein im Handelsregister des Amtsgerichts Bingen unter HR B 1063 eingetragen ist und daß die Herren Dr. Laudien und Dr. Huber als Prokuristen gemeinschaftlich zur Vertretung der Gesellschaft berechtigt sind.

Ingelheim am Rhein, den 12. Dezember 1995/hün



Notariatsverweser
anstelle des Notars
Prof. Dr. Weirich in Ingelheim



- 910 E 1 -

Die Echtheit vorstehender Unterschrift des Notarassessors Dr. Peter Wirth - Notariatsverweser anstelle des Notars Prof. Dr. Weirich in Ingelheim und die Echtheit des beigedruckten Dienst - ~~schreibens~~ - siegels werden hierdurch bestätigt. Zugleich wird bescheinigt, daß der Vorgenannte zur Vornahme der Amtshandlung gesetzlich befugt war.

Kostenberechnung:

Gebühr für Legalisation

(Wert: DM 5.00.-)

JVKostO. v. 28.7.1957

BGBI. I S. 881

DM 5.00.-

Mainz, den 13. DEZ. 1995

Amtsinspektor



Mainz, den dreizehnten Dezember neunzehnhundertfünfundneunzig
Der Präsident des Landgerichts

Dr. Hans Paul Tüllenbergl



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

MUNICH

Nr. 169

El Cónsul General de Colombia

CERTIFICA

Que el Dr. Hanns Paul Tüttenberg ----, quién autentica la firma del signatario en el presente documento, ejercía en la fecha allí indicada las funciones de Presidente del Tribunal Regional en Mainz.

Que la firma BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GmbH, domiciliada en 55216 Ingelheim am Rhein, Registro Mercantil Nr. HR B 1063 del Juzgado Municipal de Bingen está constituida y ejerce su objeto social de conformidad con las leyes de la República Federal de Alemania.

Que los señores Dr. DIETER LAUDIN y Dr. GERHARD HUBER

quien(es) firman el presente documento tiene (n) facultad legal suficiente para representar a la mencionada firma y otorgar poderes en su nombre.

Que ha tenido a la vista la documentación que prueba lo anterior.

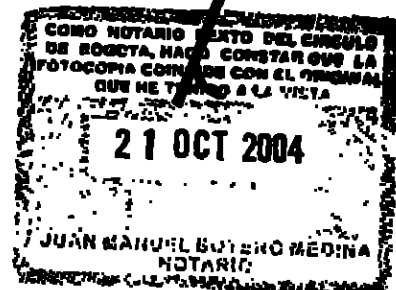
Munich, 18 de Diciembre de 1995


RICARDO MOSQUERA MESA
CONSUL GENERAL DE COLOMBIA

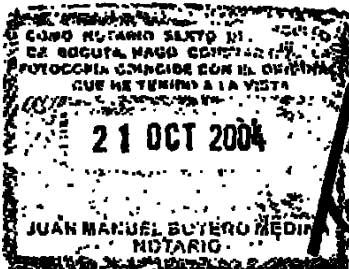


Derechos para la Nación	US \$ 6.-
Fondo Rotatorio	US \$ 100.-
Tasa consular	US \$ 1 x DM 1,60 = DM 169.60

PAGADO



BOGOTÁ 21 OCT 2004



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
SECRETARÍA DE ASUNTOS INTERNACIONALES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
Hoy ENE - 11 A 11:44
DEPTO DE LEGALIZACIONES
ANATL DE BOGOTÁ D.C.

CUZ ALR 21 OCT 2004
1-045133 + 1027
Bogotá, D.C. 21 de Octubre de 2004

6

TRADUCCION OFICIAL No. 5133

de un documento escrito en Alemán, el cual para su identificación se sella con el sello de la traductora, lo mismo que la presente.-

(A continuación del poder conferido a GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO tpa, 31929; y LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa 23555; domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia, por la BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH, domiciliada en D-55216 Ingelheim am Rhein, RFA, a través de sus representantes los Srs. Dr. Dieter Laudien y Dr. Gerhard Huber:)

Legalización

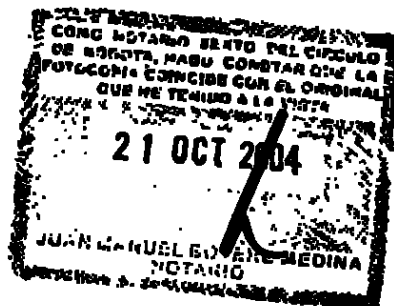
Protocolo notarial No. 2659/95 y

Certifico la autenticidad de las firmas antecedentes puestas ante mí por los señores:

1. Dr. Dieter Laudien, Dipl. Chim., domiciliado en 55127 Mainz,
2. Dr. Gerhard Huber, abogado, domiciliado en 55411 Bingen

a quienes conozco en persona.

LUZ ANA L. DE PAEZ
TRADUCTORA
Registrada No. 559 Ministerio



Ingelheim am Rhein, 12 de diciembre de 1995/hün

(Hilo y oblea roja en relieve:)

El notario suplente - Ingelheim

Prof.

(dos sellos redondos en tinta del Tribunal Regional de Mainz)

Se certifica la autenticidad de la firma antecedente del Dr. Peter Wirth, como notario suplente del Prof. Dr. Weirich, notario de Ingelheim, y la del sello oficial que la acompaña. Igualmente se certifica que el mencionado notario estaba facultado para realizar ese acto oficial.

2

8

El Presidente del Tribunal Regional

(E) Fdo.: firma ilegible

(Dr. Hanns Paul Tüttenberg).

Costas

Derechos de legalización

(Valor: DM 5.000,-)

JVKostO del 26 de julio 1957

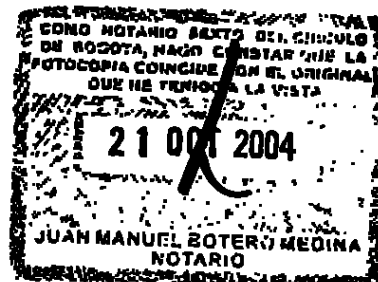
Gacetas Oficial I Pag. 861

DM 20,--

Mainz, 13 de diciembre de 1995

Fdo.: firma ilegible

Inspector



EN ESPAÑOL: La legalización de las firmas antecedentes por el Consulado de Colombia en Munich bajo el No. 189 del 10 de diciembre de 1995, y por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el No. 051606 del 4 de enero de 1996. Pagados derechos y Fondo Rotatorio US\$ 106,--

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, de la cual se deja copia en los archivos de estas oficinas para su confrontación.

Santafé de Bogotá, 6 de enero de 1996.

LUZ ARRIAGA DE HEREDIA
TRADUCTORA E INTERPRETE CIUDAD
Bogotá, 599 Minutario

[Firma]

444
1103721414

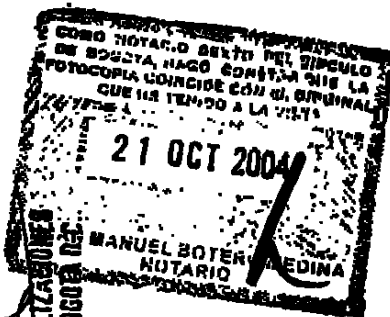
COMO NOTARIO SEXTO ENCARGADO DE SANTAFE
DE BOGOTA HAGO CONSTAR QUE LA FIRMA DE

[Handwritten signature]

C. C. _____
COINCIDE CON LA REGISTRADA POR EL (ELLA)
EN ESTA NOTARIA

09 ENE 1996

SANTAFE DE BOGOTA D.C.



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

1496 ENE 10 A 11:33

JEFE DE SECRETARIA
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

[Handwritten signature]
001911
CUYA FIRMA...
REGIMENIO...
LAS FUNCION...
HAY QUE...

TELEFAX: (57) (1) 39-1850
TELEX: 43479 CAVE CO
(23)7407375 CAVE UC

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4ª, No. 72-35
BOGOTA 8, COLOMBIA

CORREO ELECTRONICO MUNDIAL: CAVE
TELEFONO (57) (1) 2120100
CABLES: CAVELEYES

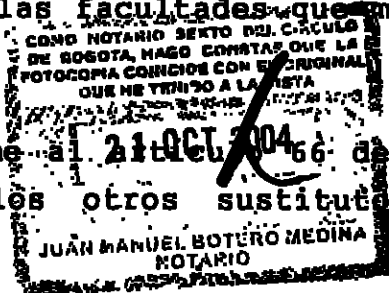
Señor Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Poderdante: BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

Poder conferido el: 12-12-95.

Yo, GERMAN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder que me ha sido conferido en la persona del doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional No. 31.929, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al 21 OCT 2004 del Código de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento.



Señor Jefe,

GERMAN CAVELIER

T.P.A. No. 832

C.C. No. 2.877.924 de Bogotá

Acepto:

EMILIO FERRERO

T.P.A. No. 31.929

C.C. No. 438.019 de Usaquén

..2e-780-2

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA

RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL

Bogotá, D. C.

11 ENE 1996

Ante M. PABLO KIENDEZ BARAJAS S.

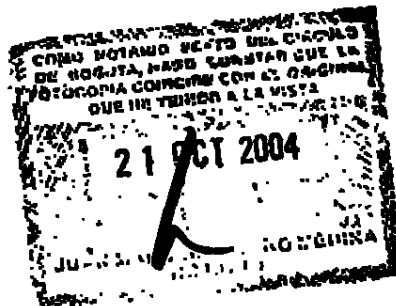
NOTARIO SEXTO ENCARGADO DEL CIRCULO DE BOGOTA

Compareció(eron)

quien(es) exhibió(aron) la(s)

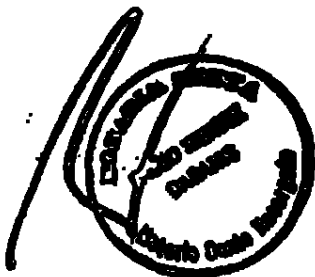
y la(s) Libreta(s) Militar(es)

domiciliado(s) en Bogotá y declaró(aron) que la(s) firma(s) que
aparecen(n) en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y
que el contenido del mismo es cierto.
En constancia se firma esta Diligencia.



Don Carlos

Emilio Ferrer



MONTREAL

**CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MONTREAL, CANADA**

AUTENTICACION No. 893

El suscrito Cónsul de Colombia

CERTIFICA:

Que **MICHEL POULIN**, quien certifica el presente documento ejerce legalmente en la fecha allí expresada el cargo de **SECRETARIO DE LA CAMARA DE NOTARIOS DE LA PROVINCIA QUEBEC - CANADA**, jurisdicción de este Consulado General, y que la firma y sello que en el documento aparecen como suyos, son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales.

El Cónsul no asume ninguna responsabilidad por el contenido del documento.

Montreal, 22 de Septiembre de 2004

Derechos Pagados : US\$23.00

Fondo Rotatorio : US\$15.00

Impuesto de Timbre : US\$ 8.00

JUAN JOSE PAEZ PINZON

Cónsul de Colombia

Montreal, Canadá

CONSULADO

**MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES**

054324
Juan Paez
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

**NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO**

2004 OCT 13 P 1:28

JCS
**JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.**

**CANADA
PROVINCE OF QUEBEC**

I, the undersigned, Michel Poulin, Secretary of the *Chambre des notaires du Québec*, a professional order duly constituted in virtue of the *Notarial Act* and the *Professional Code*, having its Head Office at Montreal, do hereby certify under my oath of office:

THAT Mtre Jean Yves Lacasse , Notary at Montreal , is a member of the *Ordre des notaires du Québec* since the 2nd day of July 1986 , date of his entry on the Roll of the Order ;

That since that date, Mtre Lacasse has always been entered on the Roll of the *Chambre des notaires du Québec* ;

THAT his signature affixed to the attached document corresponds to that filed in my office in accordance with the *Notarial Act*.

IN WITNESS WHEREOF, I have signed the present certificate at Montreal, on this Wednesday, September 22, 2004.

Michel Poulin, Notary
Secretary



Membre de l'Union internationale du notariat latin

CESION

Yo, (nosotros) abajo firmado (s)

1. Jeffrey O'MEARA
2. Bruno SIMONEAU
3. Christiane YOAKIM
4. Robert DÉZIEL
5. William W. OGILVIE

domiciliado(s) en

1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec H3R 1W9 / Canada
5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canada

declaro(amos) bajo juramento ser único(s) y verdadero(s) inventor(es) de la invención:

declaro(amos) así mismo que cedo(amos) y transfiero(emos), sin limitación, a favor de la sociedad **BOEHRINGER**

INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

constituida y existente de conformidad con las leyes de
Alemania

domiciliada en **Binger Strasse 173,**
55216 Ingelheim, Alemania

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada Compañía queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en la República de Colombia.

ASSIGNMENT

I (we), the undersigned

1. Jeffrey O'MEARA
2. Bruno SIMONEAU
3. Christiane YOAKIM
4. Robert DÉZIEL
5. William W. OGILVIE

of

1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec H3R 1W9 / Canada
5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canada

state(s) under oath to be sole and true inventor(s) of the invention:

"Dipyridodiazepinones as reverse transcriptase inhibitors"

state as well, that assign, without reservations or limitations in favour of **BOEHRINGER INGELHEIM**

INTERNATIONAL GMBH

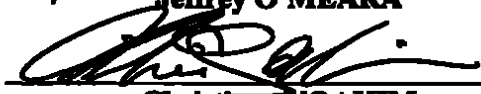
a corporation constituted and existing in conformity with the laws of
Germany

domiciled in **Binger Strasse 173,**
55216 Ingelheim, Germany

all rights inherent to said invention and that the above mentioned company hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent invention, in the Republic of Colombia

Dado y firmado hoy/Given and signed this 20th DAY OF SEPT. 2004
en/in CANADA, QUEBEC, CANADA

Firma/Signature


Jeffrey O'MEARA

Christiane YOAKIM


William W. OGILVIE

SWORN BEFORE ME
IN MONTREAL, QC, CANADA
ON THIS SEP 20, 2004


Bruno SIMONEAU

Robert DÉZIEL
JEAN-YVES LACASSE
NOTAIRE





B

13-103 CO

- 2 -

CERTEFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUO)

NOTARIAL CERTIFICATION (INDIVIDUAL)

A los _____ días del mes de _____
de 200 ____ Ante mí, Notario Público de

On this _____ day of _____
200 ____ before me, a Notary Public of

compareció(eron) personalmente _____

personally appeared _____

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede, y quien(es)
tiene(n) capacidad legal para otorgarlo

to me known, and known to me to be the person(s) who executed
that foregoing document, and who has(have) legal capacity to
execute it.

NOTARIO PÚBLICO-NOTARY PUBLIC

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:
This public document
2. has been signed by
3. acting in the capacity of
4. bears the seal/stamp of

Certified

5. at 6. the
7. by
8. No.
9. Seal/stamp 10. Signature

.....

CAVELIER ABOGADOS

WPPODE01- 374

3
14

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 10.16/04a realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia, registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento de Cesión escrito en inglés y español por medio del cual

1. Jeffrey O'MEARA, 2. Bruno SIMONEAU, 3. Christiane YOAKIM, 4. Robert DÉZIEL, 5. William W. OGILVIE, domiciliados en 1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec, H3R 1W9 / Canadá, 5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canadá; respectivamente, declaran bajo juramento ser únicos y verdaderos inventores de la invención: *"Dipiridodiazepinonas como inhibidores de la transcriptasa inversa"* y declaran así mismo que ceden y transfieren, sin limitación, a favor de la sociedad **BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH** una sociedad constituida y existente de conformidad con las leyes de Alemania domiciliada en Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim, Alemania, todos los derechos inherentes a dicha invención y que dicha Compañía queda facultada para solicitar a su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia.

Dado y firmado el 20 de Septiembre en Laval, Quebec, Canadá.

Firma Ilegible
Jeffrey O'MEARA

Firma Ilegible
Bruno SIMONEAU

Firma Ilegible
Christiane YOAKIM

Sello: JURAMENTADO ANTE MÍ EN
MONTREAL, CANADÁ
HOY 20 DE SEPTIEMBRE DE 2004.

Firma Ilegible
JEAN-YVES LACASSE
NOTARIO

CANADÁ

PROVINCIA DE QUÉBEC

14
15

Yo, el suscrito, Michel Poulin, Secretario de la *Chambre des notaires du Québec*, (Cámara de Notarios de Québec) una asociación profesional debidamente constituida en virtud de la *Ley Notarial* y del *Código Profesional*, cuya Oficina Principal está ubicada en Montreal, por el presente certifico bajo mi juramento de oficio:

QUE el Señor Jean Yves Lacasse, Notario de Montreal, es un miembro de la *Ordre des notaries du Québec* (Asociación de Notarios de Québec) desde el 2 de Julio de 1986, fecha de su inscripción en la Lista de la Asociación.

QUE desde ese día, el Señor Lacasse siempre ha permanecido inscrito en la Lista de la Asociación de la *Chambre des notaires du Québec*;

QUE la firma que fue fijada en el documento adjunto corresponde a la suya presentada ante mi oficina en concordancia con la Ley de Notarios.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he firmado el presente certificado en Montreal hoy Miércoles 22 de Septiembre de 2004.

Firma Ilegible

Michel Poulin, Notario
Secretario

69727

Sellos parciales del Consulado de Colombia de Montreal, Canadá

Se anexa autenticación No. 893 del Consulado de Colombia en Montreal, Canadá, con fecha del 22 de Septiembre de 2004, en donde

se autentica la firma anterior del Señor MICHEL POULIN y de su cargo
como SECRETARIO DE LA CÁMARA DE NOTARIOS DE LA PROVINCIA DE QUÉBEC -
CANADÁ.

Pagado el Impuesto de Timbre y Fondo de Rotatorio.

Firmado por Juan José Páez Pinzon, Cónsul de Colombia en Montreal,
Canadá.

Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de
Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Bogotá
D.C. bajo el número **054328** con fecha del 13 de Octubre de 2004.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta
oficina para su confrontación.

DVZ/ID-6073/WPCL002G/COLO 09255-841-009-5


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

656031
Dugo Varon
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 OCT 22 P 1:20
UCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE
Diego Varon
UCS
COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL(LOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, *22 OCT 2004*



CAVELIER

AB GADOS

EDIFICIO SISKI

**CARRERA 4a N° 72-38
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA**

374

CESION

Yo, (nosotros) abajo firmado (s)

1. **Jeffrey O'MEARA**
2. **Bruno SIMONEAU**
3. **Christiane YOAKIM**
4. **Robert DÉZIEL**
5. **William W. OGILVIE**

domiciliado(s) en

1. **2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada**
2. **2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada**
3. **2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada**
4. **546 Chester, Mont-Royal, Québec H3R 1W9 / Canada**
5. **1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canada**

declaro(amos) bajo juramento ser único(s) y verdadero(s) inventor(es) de la invención:

declaro(amos) así mismo que cedo(amos) y transfiero(emos), sin limitación, a favor de la sociedad **BOEHRINGER**

INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

constituida y existente de conformidad con las leyes de
Alemania

domiciliada en **Binger Strasse 173,
55216 Ingelheim, Alemania**

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada Compañía queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en la República de Colombia.

ASSIGNMENT

I (we), the undersigned

1. **Jeffrey O'MEARA**
2. **Bruno SIMONEAU**
3. **Christiane YOAKIM**
4. **Robert DÉZIEL**
5. **William W. OGILVIE**

of

1. **2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada**
2. **2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada**
3. **2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada**
4. **546 Chester, Mont-Royal, Québec H3R 1W9 / Canada**
5. **1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canada**

state(s) under oath to be sole and true inventor(s) of the invention:

"Dipyridodiazepinones as reverse transcriptase inhibitors"

state as well, that assign, without reservations or limitations in favour of **BOEHRINGER INGELHEIM**

INTERNATIONAL GMBH

a corporation constituted and existing in conformity with the laws of
Germany

domiciled in **Binger Strasse 173,
55216 Ingelheim, Germany**

all rights inherent to said invention and that the above mentioned company hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent invention, in the Republic of Colombia

Dado y firmado hoy/Given and signed this 15th day of September, 2004
en/in Ottawa, Ontario, Canada

Firma/Signature

Jeffrey O'MEARA

Christiane YOAKIM

William W. OGILVIE

Bruno SIMONEAU

Robert DÉZIEL

CAVELIER ABOGADOS

WPPDED1- 374

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____
de 200 ____ Ante mí, Notario Público de _____

compareció(eron) personalmente _____

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede, y quien(es)
tiene(n) capacidad legal para otorgarlo

NOTARIAL CERTIFICATION (INDIVIDUAL)

On this 15th day of September
200 4 before me, a Notary Public of

Ontario (Canada)
personally appeared William W. Ogilvie

to me known, and known to me to be the person(s) who executed
that foregoing document, and who has(have) legal capacity to
execute it.

NOTARIO PÚBLICO-NOTARY PUBLIC

APOSTILLE

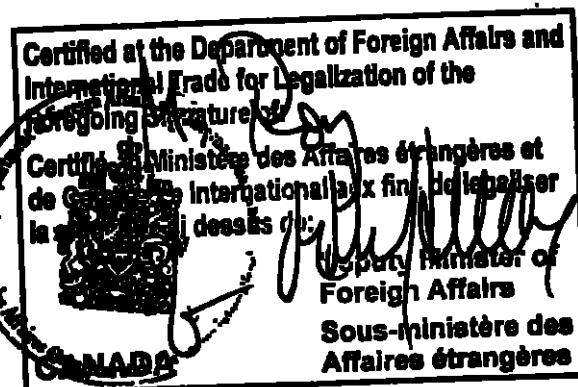
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:
This public document
2. has been signed by
3. acting in the capacity of
4. bears the seal/stamp of

Certified

5. at 6. the
7. by
8. No.
9. Seal/stamp 10. Signature

CAVELIER ABOGADOS
WPP0DB01-374



CONSULADO DE COLOMBIA

No. 93 Ottawa, Canada, a 21 de Sept. de 2004

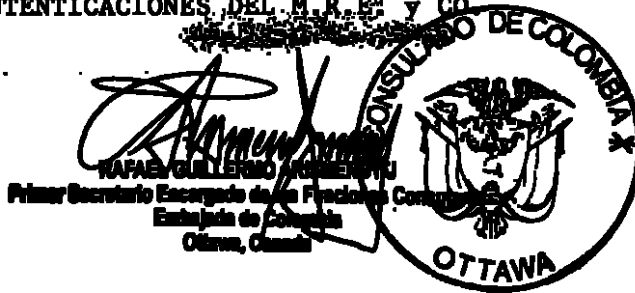
Visto en este Consulado para autenticar la firma de

MARIO NUNEZ SUAREZ

quien en la fecha ejercia las funciones de

OFICIAL DE AUTENTICACIONES DEL M.R.E. y CO

\$ 23.00



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 OCT 13 P 1:28

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

054329

Rafael Andrés Muñoz
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

19

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 10.16/04b realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia, registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento de Cesión escrito en inglés y español por medio del cual

1. Jeffrey O'MEARA, 2. Bruno SIMONEAU, 3. Christiane YOAKIM, 4. Robert DÉZIEL, 5. William W. OGILVIE, domiciliados en 1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec, H3R 1W9 / Canadá, 5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canadá; respectivamente, declaran bajo juramento ser únicos y verdaderos inventores de la invención: *"Dipiridodiazepinonas como inhibidores de la transcriptasa inversa"* y declaran así mismo que ceden y transfieren, sin limitación, a favor de la sociedad **BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH** una sociedad constituida y existente de conformidad con las leyes de Alemania domiciliada en Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim, Alemania, todos los derechos inherentes a dicha invención y que dicha Compañía queda facultada para solicitar a su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia.

Dado y firmado el 20 de Septiembre de Laval, Quebec, Canadá.

Firma Ilegible
William W. OGILVIE

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUO) del 15 de Septiembre de 2004 por medio de la cual se certifica la firma del señor William W. OGLIVIE en el anterior documento y su capacidad legal para otorgar el mismo.

NOTARIO PÚBLICO Firma Ilegible

14
20

Sello: Certificado en el Departamento de Relaciones Exteriores y Comercio Internacional para la legalización de la firma anterior de M. Roy .

Firma Ilegible

Suplente del Ministro de Relaciones Exteriores

(RESPALDO)

Autenticación No. 93 del Consulado de Colombia en Ottawa, Canadá, con fecha del 21 de septiembre de 2004, en donde se autentica la firma anterior del Señor MARIO NUNEZ SUAREZ como OFICIAL DE AUTENTICACIONES DEL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES Y COMERCIO.

Pagadas las Tasas Consulares.

Firmado por Rafael Guillermo Arismendi J., Primer Secretario Encargado de las Funciones Consulares de la Embajada de Colombia en Ottawa, Canadá.

Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Bogotá D.C. bajo el número **054329** con fecha del 13 de Octubre de 2004.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-6080/WPCL002G/COLO 09255-841-009-5


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) Diego Jaramillo
069818
COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 22 OCT 1984



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2004 OCT 22 P 1:19
JCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

OFICIO DE RELACIONES
EXTERIORES
U56030
Diego Jaramillo
CALLE FERIA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS



21

**CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MONTREAL, CANADA**

AUTENTICACION No. 894

El suscrito Cónsul de Colombia

CERTIFICA:

**que MICHEL POULIN, quien certifica el presente documento ejercía
legalmente en la fecha allí expresada el cargo de SECRETARIO DE
LA CAMARA DE NOTARIOS DE LA PROVINCIA QUEBEC -
CANADA, jurisdicción de este Consulado General, y que la firma y
sello que en el documento aparecen como suyos, son los que usa y
acostumbra en sus actos oficiales.**

**El Cónsul no asume ninguna responsabilidad por el contenido del
documento.**

Montreal, 23 de Septiembre de 2004

Derechos Pagados : US\$23.00

Arando Notatorio : US\$15.00

Impuesto de Timbre : US\$ 8.00

**JUAN JOSE PAEZ PINZON
Cónsul de Colombia
Montreal, Canada**



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Juan Paez 054330
Cuya firma aparece en el
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 OCT 13 P 1:29

JCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.





**CANADA
PROVINCE OF QUEBEC**

I, the undersigned, Michel Poulin, Secretary of the *Chambre des notaires du Québec*, a professional order duly constituted in virtue of the *Notarial Act* and the *Professional Code*, having its Head Office at Montreal, do hereby certify under my oath of office:

THAT Mtre Jocelyn Langlois, Notary at Montreal, is a member of the *Ordre des notaires du Québec* since the 1st day of November 1982, date of his entry on the Roll of the Order;

That since that date, Mtre Langlois has always been entered on the Roll of the *Chambre des notaires du Québec*;

THAT his signature affixed to the attached document corresponds to that filed in my office in accordance with the *Notarial Act*.

IN WITNESS WHEREOF, I have signed the present certificate at Montreal, on this Thursday, September 23, 2004.

Michel Poulin, Notary
Secretary



Membre de l'Union internationale du notariat latin

CONFIDENTIAL

(

CESION

Yo, (nosotros) abajo firmado (s)

1. Jeffrey O'MEARA
2. Bruno SIMONEAU
3. Christiane YOAKIM
4. Robert DÉZIEL
5. William W. OGILVIE

domiciliado(s) en

1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec H3R 1W9 / Canada
5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canada

declaro(amos) bajo juramento ser único(s) y verdadero(s) inventor(es) de la invención:

declaro(amos) así mismo que cedo(emos) y transfiero(crimos), sin limitación, a favor de la sociedad **BOEHRINGER**

INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

constituida y existente de conformidad con las leyes de
Alemania

domiciliada en **Binger Strasse 173,**
55216 Ingelheim, Alemania

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada Compañía queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en la República de Colombia.

ASSIGNMENT

I (we), the undersigned

1. Jeffrey O'MEARA
2. Bruno SIMONEAU
3. Christiane YOAKIM
4. Robert DÉZIEL
5. William W. OGILVIE

of

1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canada
4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec H3R 1W9 / Canada
5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canada

state(s) under oath to be sole and true inventor(s) of the invention:

"Dipyridodiazepinones as reverse transcriptase inhibitors"

state as well, that assign, without reservations or limitations in favour of **BOEHRINGER INGELHEIM**

INTERNATIONAL GMBH

a corporation constituted and existing in conformity with the laws of
Germany

domiciled in **Binger Strasse 173,**
55216 Ingelheim, Germany

all rights inherent to said invention and that the above mentioned company hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent invention, in the Republic of Colombia

FOR

Dado y firmado hoy/Given and signed this 14th day of SEPTEMBER 2004

en/in MONTREAL QUEBEC Canada

JOCELYN LANGLOIS, notario
187, Av. Appin
Mont-Royal (Québec)
H3P 1V8

Firma/Signature

Jeffrey O'MEARA

Christiane YOAKIM

William W. OGILVIE

Bruno SIMONEAU

Robert DÉZIEL



JOCELYN LANGLOIS, notaria
1.º de 1.º
Montevideo, Uruguay
1984

24 22

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUO)

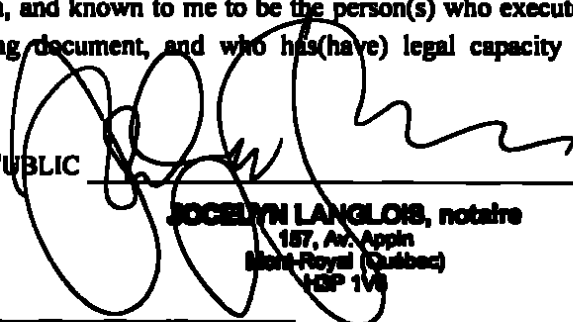
_____ días del mes de _____
de 200 ____ Ante mí, Notario Público de _____

compareció(eron) personalmente _____

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede, y quien(es)
tiene(n) capacidad legal para otorgarlo

NOTARIAL CERTIFICATION (INDIVIDUAL)
On this 14 day of September
200 4 before me, a Notary Public of Province of
Quebec Canada
personally appeared Mr. ROBERT Dziel

to me known, and known to me to be the person(s) who executed
that foregoing document, and who has(have) legal capacity to
execute it.

NOTARIO PÚBLICO-NOTARY PUBLIC 
JOCELYN LANGLOIS, notaire
157, Av. Appin
Mont-Royal (Québec)
H3P 1V8

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:
This public document
2. has been signed by
3. acting in the capacity of
4. bears the seal/stamp of

Certified

5. at 6. the
7. by
8. No.
9. Seal/stamp 10. Signature
.....

73
25
TRADUCCIÓN OFICIAL No. 10.16/04c realizada por Diego Vargas, Traductor
Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia,
registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento de Cesión escrito en inglés y español por medio del cual
1. Jeffrey O'MEARA, 2. Bruno SIMONEAU, 3. Christiane YOAKIM, 4. Robert DÉZIEL, 5. William W. OGILVIE, domiciliados en 1. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 2. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 3. 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S 2G5 / Canadá, 4. 546 Chester, Mont-Royal, Québec, H3R 1W9 / Canadá, 5. 1999 Woodglen Crescent, Ottawa, Ontario K1J 6G7 / Canadá; respectivamente, declaran bajo juramento ser únicos y verdaderos inventores de la invención: "Dipiridodiazepinonas como inhibidores de la transcriptasa inversa" y declaran así mismo que ceden y transfieren, sin limitación, a favor de la sociedad BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH una sociedad constituida y existente de conformidad con las leyes de Alemania domiciliada en Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim, Alemania, todos los derechos inherentes a dicha invención y que dicha Compañía queda facultada para solicitar a su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia.

Firma Ilegible
Robert DÉZIEL

Dado y firmado el 14 de Septiembre de Montreal, Quebec, Canadá por el señor Robert DÉZIEL.

Firma Ilegible

JOCELYN LANGLOIS, notario
157, Av Appin

Mont-Royal (Québec)

H3P 1V6

24
26

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUO) del 14 de Septiembre de 2004 por medio de la cual se certifica la firma del señor Robert Déziel en el anterior documento y su capacidad legal para otorgar el mismo.

NOTARIO PÚBLICO Firma Ilegible

JOCELYN LANGLOIS, notario

157, Av Appin

Mont-Royal (Québec)

H3P 1V6

CANADÁ

PROVINCIA DE QUÉBEC

Yo, el suscrito, Michel Poulin, Secretario de la *Chambre des notaires du Québec*, (Cámara de Notarios de Québec) una asociación profesional debidamente constituida en virtud de la *Ley Notarial* y del *Código Profesional*, cuya Oficina Principal está ubicada en Montreal, por el presente certifico bajo mi juramento de oficio:

QUE el Señor Jocelyn Langlois, Notario de Montreal, es un miembro de la *Ordre des notaries du Québec* (Asociación de Notarios de Québec) desde el 1 de Noviembre de 1982, fecha de su inscripción en la Lista de la Asociación.

QUE desde ese día, el Señor Langlois siempre ha permanecido inscrito en la Lista de la Asociación de la *Chambre des notaires du Québec*;

25
27
QUE la firma que fue fijada en el documento adjunto corresponde a la suya presentada ante mí oficina en concordancia con la Ley de Notarios.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he firmado el presente certificado en Montreal hoy Jueves 23 de Septiembre de 2004.

Firma Ilegible

Michel Poulin, Notario
Secretario

69759

Sellos parciales del Consulado de Colombia de Montreal, Canadá

Se anexa autenticación No. 894 del Consulado de Colombia en Montreal, Canadá, con fecha del 23 de Septiembre de 2004, en donde se autentica la firma anterior del Señor MICHEL POULIN y de su cargo como SECRETARIO DE LA CÁMARA DE NOTARIOS DE LA PROVINCIA DE QUÉBEC - CANADÁ.

Pagado el Impuesto de Timbre y Fondo de Rotatorio.

Firmado por Juan José Páez Pinzon, Cónsul de Colombia en Montreal, Canadá.

Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Bogotá D.C. bajo el número 054330 con fecha del 13 de Octubre de 2004.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-6081/WPCL002G/COLO 09255-841-009-5

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

Diego Fernandez

Diego Fernandez

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL(LOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 22 OCT 2004



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 OCT 22 P 1:20

Lucas
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

656032

Diego Fernandez
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
2 October 2003 (02.10.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/080612 A1

(51) International Patent Classification: C07D 471/14,
A61K 31/55, A61P 31/18 // (C07D 471/14, 243:00,
221:00, 221:00)

William, W. [CA/CA]; 1999 Woodglen Crescent, Ottawa,
Ontario K1J 6G7 (CA).

(21) International Application Number: PCT/CA03/00418

(74) Agent: BERNIER, Louise, G.; Boehringer Ingelheim
(Canada) Ltd., 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S
2G5 (CA).

(22) International Filing Date: 24 March 2003 (24.03.2003)

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

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/367,971 27 March 2002 (27.03.2002) US

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

(71) Applicant (*for all designated States except US*):
BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH [DE/DE]; Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim
am Rhein (DE).

(72) Inventors; and

(73) Inventors/Applicants (*for US only*): O'MEARA, Jef-
frey [CA/CA]; 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S
2G5 (CA). SIMONEAU, Bruno [CA/CA]; 2100 Cunard
Street, Laval, Québec H7S 2G5 (CA). YOAKIM, Chris-
tiane [CA/CA]; 2100 Cunard Street, Laval, Québec H7S
2G5 (CA). DÉZIEL, Robert [CA/CA]; 546 Chester,
Mont-Royal, Québec H3R 1W9 (CA). OGILVIE,

Published:

— with international search report

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

WO 03/080612 A1

(54) Title: DIPYRIDODIAZEPINONES AS REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

(57) Abstract: Disclosed are compounds of formula I: wherein R2 is H, halogen, (C1-4)alkyl, O(C1-4)alkyl, NH(C1-4)alkyl or N(C1-4)alkyl; R4 is H or CH3; R5 is H or CH3; R12 is H, halogen, (C1-4)alkyl, CF3, or NO2; R13 is H, (C1-4)alkyl, halogen, OH, or NH2, with the proviso that R12 and R13 are not both H; and R14 is COOR14a wherein R14a is H or (C1-6)alkyl; or R14 is (C2-4)alkenyl-COOR14a wherein R14a is as defined herein; or R14 is (C1-4)alkyl-COOR14a wherein R14a is as defined above; or a salt or a prodrug thereof, useful as inhibitors of HIV reverse transcriptase.

27
29**DIPYRIDODIAZEPINONES AS REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS****TECHNICAL FIELD OF THE INVENTION**

5 The invention concerns novel compounds and pharmaceutically acceptable salts thereof, their use, either alone or in combination with other therapeutic agents, in the treatment or prophylaxis of HIV infection, and to pharmaceutical compositions comprising the compounds.

10 BACKGROUND OF THE INVENTION

The disease known as acquired immune deficiency syndrome (AIDS) is caused by the human immunodeficiency virus (HIV), particularly the strain known as HIV-1. In order for HIV to be replicated by a host cell, the information of the viral genome must
15 be integrated into the host cell's DNA. However, HIV is a retrovirus, meaning that its genetic information is in the form of RNA. The HIV replication cycle therefore requires a step of transcription of the viral genome (RNA) into DNA, which is the reverse of the normal chain of events. An enzyme that has been aptly dubbed reverse transcriptase (RT) accomplishes the transcription of the viral RNA into DNA.

20 The HIV virion includes a copy of RT along with the viral RNA.

Reverse transcriptase has three known enzymatic functions; it acts as an RNA-dependent DNA polymerase, as a ribonuclease, and as a DNA-dependent DNA polymerase. Acting as an RNA-dependent DNA polymerase, RT transcribes a
25 single-stranded DNA copy of the viral RNA. Acting as a ribonuclease, RT destroys the original viral RNA, and frees the DNA just produced from the original RNA. Finally, acting as a DNA-dependent DNA polymerase, RT makes a second, complementary DNA strand, using the first DNA strand as a template. The two strands form double-stranded DNA, which is integrated into the host cell's genome
30 by another enzyme called integrase.

Compounds that inhibit the enzymatic functions of HIV-1 reverse transcriptase will inhibit replication of HIV-1 in infected cells. Such compounds are useful in the prevention or treatment of HIV-1 infection in human subjects, as demonstrated by
35 known RT inhibitors such as 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT), 2',3'-dideoxyinosine (ddi), 2',3'-dideoxycytidine (ddC), d4T, 3TC, Nevirapine, Delavirdine, Efavirenz and Abacavir, the main drugs thus far approved for use in the treatment of AIDS.

28
30

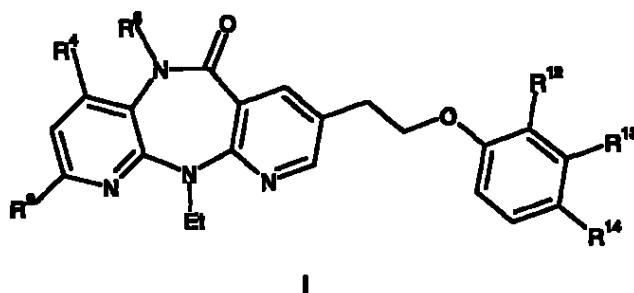
- As with any antiviral therapy, use of RT inhibitors in the treatment of AIDS eventually leads to a virus that is less sensitive to the given drug. Resistance (reduced sensitivity) to these drugs is the result of mutations that occur in the reverse transcriptase segment of the *pol* gene. Several mutant strains of HIV have been characterized, and resistance to known therapeutic agents is due to mutations in the RT gene. Some of the most commonly observed mutants in the clinic are: the Y181C mutant, in which a tyrosine (Y) at codon 181 has been mutated to a cysteine (C) residue and K103N where the lysine (K) at position 103 has been replaced by asparagine (N). Other mutants, which emerge with increasing frequency during treatment with known antivirals, include the single mutants V108A, G190A, Y188C, and P236L; and the double mutants K103N/Y181C, K103N/P225H, K103N/V108I, and K103N/L100I.
- Continued use of antiviral compounds to prevent HIV infection will undoubtedly cause an increased emergence of new resistant strains of HIV. There is therefore an ongoing need for new inhibitors of RT, with different patterns of effectiveness against the various mutants.
- Compounds having tricyclic structures, which are inhibitors of HIV-1, are described in U.S. Pat. No. 5,366,972. Other inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase are described in Hargrave et al., J. Med. Chem., 34, 2231 (1991).
- U.S. Pat. No. 5,705,499 proposes 8-arylalkyl- and 8-arylheteroalkyl-5,11-dihydro-6H-dipyrido[3,2-B:2',3'-E][1,4]diazepines as inhibitors of RT. The exemplified compounds are shown to have some activity against wild type and mutant HIV-1 RT, particularly Y181C and other single mutants such as K103N albeit less effectively.
- WO 01/96338A1 and US patent 6,420,359 disclose diazepine structures having quinoline and quinoline-N-oxide substituents as inhibitors of RT. The exemplified compounds have activity against HIV WT, single and double mutant strains.

SUMMARY OF THE INVENTION

- The invention provides substituted benzoic acid containing compounds that are potent inhibitors of wild-type (WT) and double mutant strains of HIV-1 RT, particularly the double mutation K103N/Y181C.

29
31

In a first aspect of the invention, there is provided a compound of formula I:



wherein

- 5 R^3 is H, halogen, (C_{1-4}) alkyl, $O(C_{1-4})$ alkyl, $NH(C_{1-4})$ alkyl or $N(C_{1-4})$ alkyl)₂;
 R^4 is H or CH_3 ;
 R^f is H or CH_3 ;
 R^{12} is H, halogen, (C_{1-4}) alkyl, CF_3 , or NO_2 ;
 R^{13} is H, (C_{1-4}) alkyl, halogen, OH, or NH_2 , with the proviso that R^{12} and R^{13} are not
 10 both H; and
 R^{14} is $COOR^{14a}$ wherein R^{14a} is H or (C_{1-4}) alkyl; or R^{14} is (C_{2-4}) alkenyl $COOR^{14a}$
 wherein R^{14a} is as defined herein; or R^{14} is (C_{1-4}) alkyl $COOR^{14a}$ wherein R^{14a} is as
 defined herein;
 or a salt or a prodrug thereof

15

According to a second aspect of the invention, there is provided a pharmaceutical composition for the treatment or prevention of HIV infection, comprising a compound of formula I, as described herein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier.

20

According to a third aspect of the invention, there is provided a method for the treatment or prevention of HIV infection, comprising administering to a patient an HIV inhibiting amount of a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or a pharmaceutical composition, both as defined herein.

25

According to a fourth aspect of the invention, there is provided a method for treating or preventing HIV infection comprising administering a pharmaceutical composition comprising a compound of formula I, as described herein, in combination with an antiretroviral drug.

30

30
32

According to a fifth aspect of the invention, there is provided a method for preventing perinatal transmission of HIV-1 from mother to baby, comprising administering a compound of formula I or a pharmaceutical composition, as described herein, to the mother before giving birth.

5

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Definitions

The following definitions apply unless otherwise noted:

10 As used herein, the terms "(C₁₋₂)alkyl", "(C₁₋₄) alkyl" and "(C₁₋₆)alkyl", either alone or in combination with another radical, is intended to mean acyclic alkyl radicals containing up to two, four, or six carbon atoms respectively. Examples of such radicals include methyl, ethyl, propyl, butyl, 1-methylethyl, 1-methylpropyl, 2-methylpropyl, and 1,1-dimethylethyl.

15

As used herein, the term "(C₂₋₄) alkenyl", either alone or in combination with another radical, is intended to mean an unsaturated, acyclic radical containing two to four carbon atoms.

20 As used herein, the term "halogen" means a halogen atom and includes fluorine, chlorine, bromine and iodine.

As used herein, the term "pharmaceutically acceptable salt" includes those derived from pharmaceutically acceptable bases and is non-toxic. Examples of suitable
25 bases include choline, ethanolamine and ethylenediamine. Na⁺, K⁺, and Ca⁺⁺ salts are also contemplated to be within the scope of the invention (also see Pharmaceutical salts, Birge, S.M. et al., J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19, incorporated herein by reference).

30 As used herein, the term "prodrug" refers to pharmacologically acceptable derivatives, such that the resulting biotransformation product of the derivative is the active drug, as defined in compounds of formula I. Examples of such derivatives include, but are not limited to, esters and amides. (see Goodman and Gilman In The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed., McGraw-Hill, Int. Ed. 1995,
35 "Biotransformation of Drugs, p 11-16, incorporated herein by reference).

33

Detailed description of preferred embodiments

Preferably, R^2 is H, halogen, (C_{1-4}) alkyl, $O(C_{1-4})$ alkyl or $N(C_{1-4})alkyl)_2$. Even preferably,
5 R^2 is H, Cl, F, (C_{1-4}) alkyl, $O(C_{1-4})$ alkyl, or $N(C_{1-4})alkyl)_2$. More preferably R^2 is H, Cl, F, CH_3 , OMe, or OEt. Most preferably, R^2 is H.

Preferably, R^4 and R^5 are not both the same.

10 More preferably, R^4 is H.

More preferably, R^5 is CH_3 .

Preferably, R^{12} is halogen, (C_{1-4}) alkyl, CF_3 , or NO_2 . More preferably, R^{12} is Br, Cl,
15 CH_3 or CH_3CH_2 . Most preferably, R^{12} is CH_3 or CH_3CH_2 .

Preferably, R^{13} is H, CH_3 , halogen, OH, or NH_2 . More preferably, R^{13} is H, CH_3 , or OH. Most preferably, R^{13} is H.

20 Preferably, R^{14} is $COOH$, $COOMe$, $(C_{2-4})alkenylCOOH$, or $(C_{1-4})alkylCOOH$. More preferably, R^{14} is $COOH$, $CH=CH-COOH$, CH_2COOH , or CH_2CH_2COOH . Most preferably, R^{14} is $COOH$.

The compounds of formula I are effective inhibitors of wild type HIV as well as
25 inhibiting the double mutant enzyme K103N/Y181C.

The compounds of formula I possess inhibitory activity against HIV-1 reverse transcriptase. When administered in suitable dosage forms, they are useful in the treatment of AIDS, ARC and related disorders associated with HIV-1 infection.

30 Another aspect of the invention, therefore, is a method for treating HIV-1 infection which comprises administering to a human being, infected by HIV-1, a therapeutically effective amount of a novel compound of formula I, as described above. Whether it be termed treatment or prophylaxis, the compound may also be used to prevent perinatal transmission of HIV-1 from mother to baby, by
35 administration to the mother prior to giving birth.

The compounds of formula I may be administered in single or divided doses by the oral or parenteral routes. A suitable oral dosage for a compound of formula I would be in the range of about 0.5 mg to 3 g per day. A preferred oral dosage for a
5 compound of formula I would be in the range of about 100 mg to 800 mg per day for a patient weighing 70 kg. In parenteral formulations, a suitable dosage unit may contain from 0.1 to 250 mg of said compound, preferably 1 mg to 200 mg. It should be understood, however, that the dosage administration from patient to patient will vary and the dosage for any particular patient will depend upon the clinician's
10 judgement, who will use as criteria for fixing a proper dosage the size and condition of the patient as well as the patient's response to the drug.

When the compounds of the present invention are to be administered by the oral route, they may be administered as medicaments in the form of pharmaceutical
15 preparations, which contain them in association with a compatible pharmaceutical carrier material. Such carrier material can be an inert organic or inorganic carrier material suitable for oral administration. Examples of such carrier materials are water, gelatin, talc, starch, magnesium stearate, gum arabic, vegetable oils, polyalkylene-glycols, petroleum jelly and the like.

20 The compounds of formula I can be used in combination with an antiretroviral drug known to one skilled in the art, as a combined preparation useful for simultaneous, separate or sequential administration for treating or preventing HIV infection in an individual. Examples of antiretroviral drugs that may be used in combination therapy
25 with compounds of formula I, include but are not limited to, nucleoside / nucleotide reverse transcriptase inhibitors (such as AZT and Tenofovir), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (such as Nevirapine), protease inhibitors (such as Ritonavir), viral fusion inhibitors (such as T-20), CCR5 antagonists (such as SCH-351125), CXCR4 antagonists (such as AMD-3100), integrase inhibitors (such as L-
30 870,810), TAT inhibitors, other investigational drugs (such as PRO-542, BMS-806, TMC-114 or AI-183), antifungal or antibacterial agents (such as fluconazole), and immunomodulating agents (such as Levamisole). Moreover, a compound of formula I can be used with another compound of formula I.

35 The pharmaceutical preparations can be prepared in a conventional manner and finished dosage forms can be solid dosage forms, for example, tablets, dragees,

33
35

capsules, and the like, or liquid dosage forms, for example solutions, suspensions, emulsions and the like. The pharmaceutical preparations may be subjected to conventional pharmaceutical operations such as sterilization. Further, the pharmaceutical preparations may contain conventional adjuvants such as
5 preservatives, stabilizers, emulsifiers, flavor-improvers, wetting agents, buffers, salts for varying the osmotic pressure and the like. Solid carrier material which can be used include, for example, starch, lactose, mannitol, methyl cellulose, microcrystalline cellulose, talc, silica, dibasic calcium phosphate, and high molecular weight polymers (such as polyethylene glycol).

10 For parenteral use, a compound of formula I can be administered in an aqueous or non-aqueous solution, suspension or emulsion in a pharmaceutically acceptable oil or a mixture of liquids, which may contain bacteriostatic agents, antioxidants, preservatives, buffers or other solutes to render the solution isotonic with the blood,
15 thickening agents, suspending agents or other pharmaceutically acceptable additives. Additives of this type include, for example, tartrate, citrate and acetate buffers, ethanol, propylene glycol, polyethylene glycol, complex formers (such as EDTA), antioxidants (such as sodium bisulfite, sodium metabisulfite, and ascorbic acid), high molecular weight polymers (such as liquid polyethylene oxides) for
20 viscosity regulation and polyethylene derivatives of sorbitol anhydrides.

Preservatives may also be added if necessary, such as benzoic acid, methyl or propyl paraben, benzalkonium chloride and other quaternary ammonium compound.

The compounds of this invention may also be administered as solutions for nasal
25 application and may contain in addition to the compounds of this invention suitable buffers, tonicity adjusters, microbial preservatives, antioxidants and viscosity-increasing agents in an aqueous vehicle. Examples of agents used to increase viscosity are polyvinyl alcohol, cellulose derivatives, polyvinylpyrrolidone, polysorbates or glycerin. Microbial preservatives added may include benzalkonium
30 chloride, thimerosal, chloro-butanol or phenylethyl alcohol.

Additionally, the compounds provided by the invention can be administered by suppository.

35 Methodology and synthesis

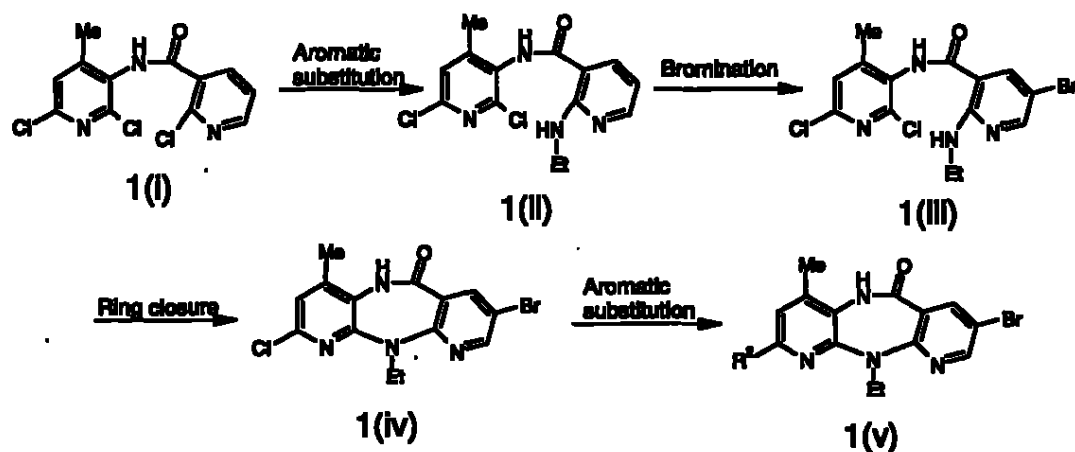
The compound of the invention may be made using the skills of a synthetic organic

36

chemist. Exemplary reaction schemes are shown in Schemes 1 to 4 below.
Substituents R^2 , R^4 , R^6 , R^{12} , R^{13} , and R^{14} are as defined herein.

Scheme 1: Preparation of Intermediates in which R^4 is Me

5

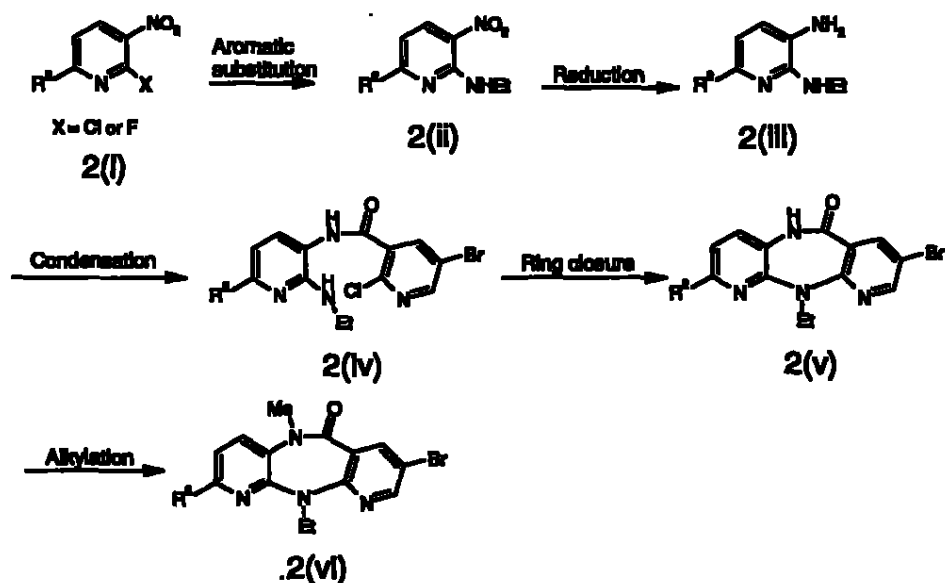


Briefly, aromatic substitution (S_NAR) of 1(I) with $Et-NH_2$ produces Intermediate 1(II).
Thereafter, halogenation of the 5-position using a brominating agent (for example, NBS or bromine) gives 1(III). Ring closure of 1(III) via a base-mediated S_NAR reaction forms the tricyclic Intermediate 1(IV). Introduction of the R^2 substituent proceeds via an aromatic substitution of the C-2 chlorine in 1(IV) thereby giving compound of Intermediate 1(V).

15

35
37

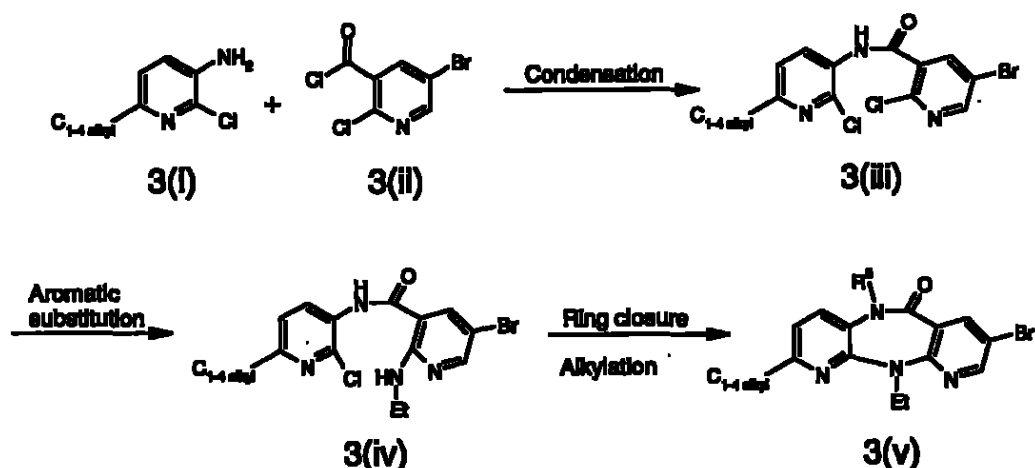
Scheme 2: Preparation of intermediates in which R⁵ is Me



- 5 The sequence of scheme 2 is analogous to one described by J.M. Klunder *et al.*; *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2960-71, and C.L. Cywin *et al.*; *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2972-84. Briefly, aromatic substitution (S_NAR) of 2(I) with Et-NH₂ produces intermediate 2(II). Reduction of the nitro group (for example using catalytic hydrogenation) produces 2(III). A base mediated condensation reaction of 2(III) with,
- 10 for example, 5-bromo-2-chloro-3-pyridinecarbonyl chloride, provides 2(IV). Ring closure of 2(IV) proceeds via a base-mediated S_NAR reaction to form the tricyclic intermediate 2(V). The R⁵ methyl group in 2(VI) may be introduced by art recognized alkylation using, for example, methyl iodide.

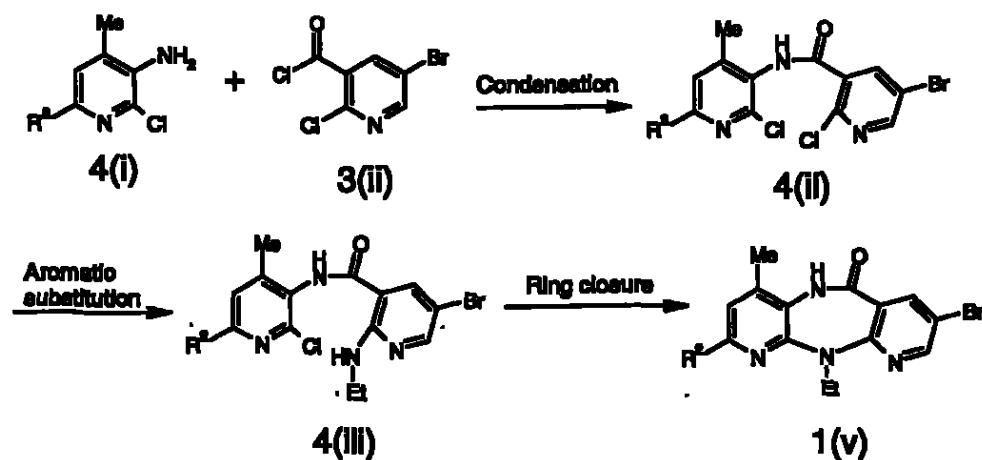
~~38~~
38

Scheme 3: Preparation of Intermediates in which R² is C₁₋₄ alkyl

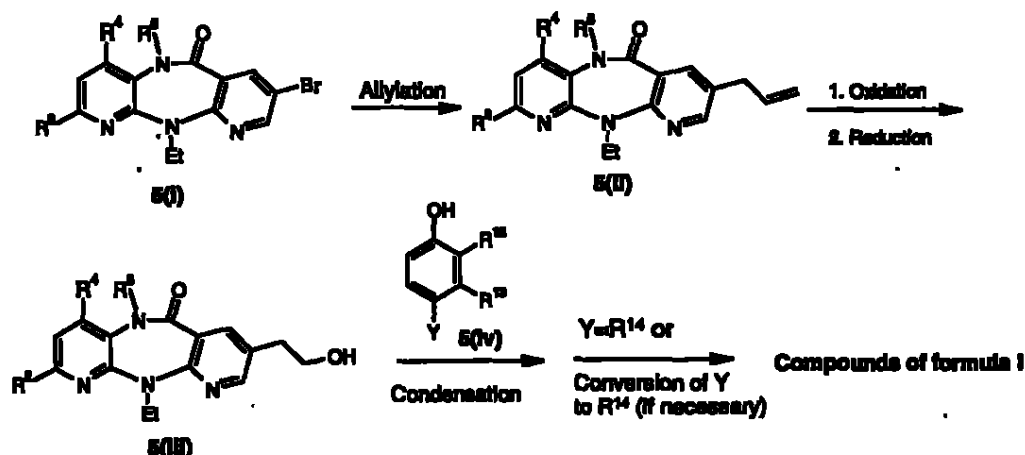


Briefly, a base-mediated condensation reaction between 3(I) and 3(II) gives
 5 Intermediate 3(III). Aromatic substitution (S_NAR) of 3(III) with Et-NH₂ produces
 Intermediate 3(IV). Ring closure of 3(IV) proceeds via a base-mediated S_NAR
 reaction to form a tricyclic Intermediate, which is alkylated to give compound of
 Intermediate 3(V).

10 Scheme 4: Alternate route to compound in which R⁴ is Me



Briefly, a base-mediated condensation reaction between 4(I) and 3(II) gives
 Intermediate 4(II). Aromatic substitution (S_NAR) of 4(II) with Et-NH₂ produces
 Intermediate 4(III). Ring closure of 4(III) proceeds via a base-mediated S_NAR
 15 reaction to form a tricyclic compound of Intermediate 1(V).

32
39**Scheme 5: Introduction of the benzoic acid derivatives**

Briefly, cross-coupling of bromo derivative 5(I), synthesized as described herein, with an allyl tin reagent in an aprotic solvent (e.g. DMF) and in the presence of a catalyst, forms C-8 substituents 5(II). Oxidation of the double bond (e.g. by ozonolysis to produce an ozonide), followed by a reduction, produces the C-8 hydroxyethyl substituent 5(III). Using a Mitsunobu-type reaction, naphthyl derivatives 5(IV), 5(v) or 5(vi) when Y is R¹⁴ with the exception of COOH, are condensed with 5(III) to produce compound of formula I. Alternatively, when Y is a R¹⁴ group precursor, for example COOCH₃, a Mitsunobu-type reaction can be used to condense 5(IV) or 5(v) with 5(III), and thereafter Y can be chemically converted into R¹⁴ substituents, for example by saponification of COOCH₃ to give COOH, thereby giving compound of formula I.

As stated before, the compound provided by the invention inhibit the enzymatic activity of HIV-1 RT. Based upon testing of these compound, as described below, it is known that they inhibit the RNA-dependent DNA polymerase activity of HIV-1 RT. It is known (data not shown) that they also inhibit the DNA-dependent DNA polymerase activity of HIV-1 RT. Utilizing the Reverse Transcriptase (RT) Assay described below, compound can be tested for their ability to inhibit the RNA-dependent DNA polymerase activity of HIV-1 RT. Certain specific compound described in the Examples which appear below, were so tested. The results of this testing appear in Table 1 as IC₅₀ and EC₅₀.

38
40

EXAMPLES

The present invention is illustrated in further detail by the following non-limiting examples. All reactions were performed in a nitrogen or argon atmosphere unless
5 otherwise stated. Temperatures are given in degrees Celsius. Solution percentages or ratios express a volume to volume relationship, unless stated otherwise.

Abbreviations or symbols used herein include:

- DEAD: diethyl azodicarboxylate;
DIAD: diisopropyl azodicarboxylate;
10 DIEA: diisopropylethylamine;
DMAP: 4-(dimethylamino) pyridine;
DMSO: dimethylsulfoxide;
DMF: dimethylformamide;
DCC: dicyclohexylcarbodiimide;
15 ES MS: electron spray mass spectrometry;
Et: ethyl;
EtOH: ethanol;
EtOAc: ethyl acetate;
Et₂O: diethyl ether;
20 HPLC: high performance liquid chromatography;
iPr: isopropyl;
Me: methyl;
MeOH: methanol;
MeCN: acetonitrile;
25 NaHMDS: sodium hexamethyldisilazide;
NBS: N-bromosuccinimide;
Ph: phenyl;
TBE: tris-borate-EDTA;
TBTU: 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-N, N, N', N'-tetramethyluronium tetrafluoroborate;
30 TFA: trifluoroacetic acid;
THF: tetrahydrofuran;
PFU: plaque-forming units;
DEPC: diethyl pyrocarbonate;
DTT: dithiothreitol;
35 EDTA: ethylenediaminetetraacetate;

39
41

UMP: uridine 5'-monophosphate;

UTP: uridine 5'-triphosphate;

MES: 2-(n-morpholino)ethanesulfonic acid;

SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis;

5 MWCO: molecular weight cut-off;

Bis-Tris Propane: 1,3-Bis[tris(hydroxymethyl)-methylamino]propane;

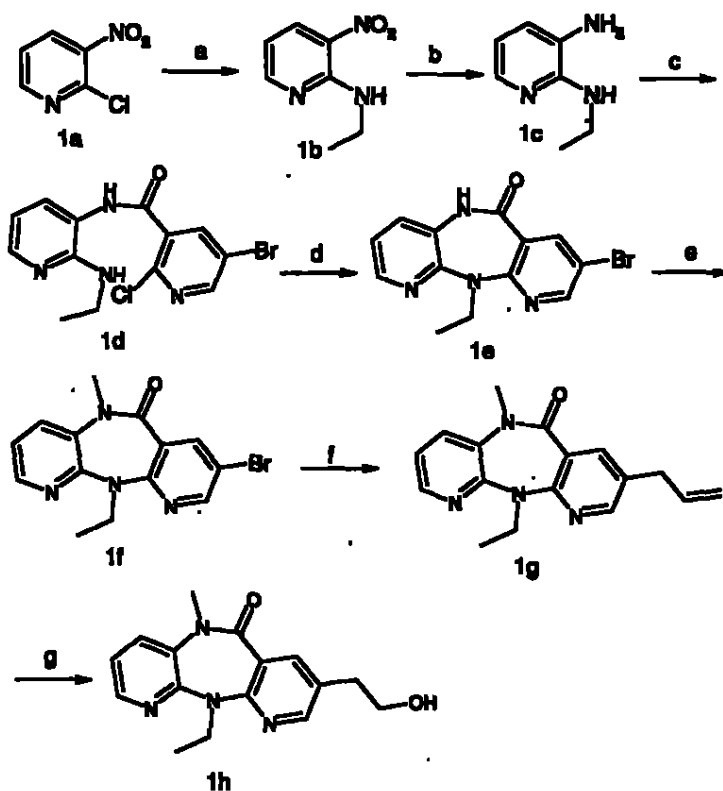
GSH: reduced glutathione;

OBG: n-Octyl- β -D-glucoside.

10 SYNTHESIS

The following examples illustrate methods for preparing compounds of the invention.

EXAMPLE 1:



15

Step a:

To a solution of 2-chloro-3-nitropyridine **1a** (51 g, 325 mmol) in THF (650 mL) was added a 2 M solution of ethylamine in THF (365 mL, 731 mmol). The reaction was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was poured into water

20

42

(~1.5 L) and the resulting solid was filtered and dried under reduced pressure to give compound 1b (52 g).

Step b:

- 5 A solution of 2-(ethylamino)-3-nitropyridine 1b (52 g) in MeOH (600 mL) was stirred overnight at room temperature under hydrogen (1 atm.) in the presence of 20% Pd(OH)₂/C (10.4 g). The catalyst was removed by filtration through diatomaceous earth. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give compound 1c as a black solid (39 g, 88% yield over steps a and b).

10

Step c:

- To a cooled solution of 3-amino-2-(ethylamino)pyridine 1c (30.6 g, 223 mmol) in MeCN (740 mL) was added solid NaHCO₃ (58.3 g, 669 mmol). After 5 min, crude 5-bromo-2-chloro-3-pyridinecarbonyl chloride (prepared from 5-bromo-2-hydroxy-3-pyridinecarboxylic acid and SOCl₂ (1 equiv., 223 mmol) was added [as described by
- 15 T. W. Gero *et al.* in *Synth. Commun.* 1989, 19, 553-559 (incorporated herein by reference) but with omission of the aqueous work-up]. After 2 h, the reaction mixture was poured over ice/H₂O (1.5 L) and the resulting solid was filtered, rinsed with H₂O and then hexane. After drying under reduced pressure overnight, compound 1d was
- 20 obtained as a black solid (54.9 g, 69% yield).

Step d:

- To a solution of 2-chloro-N-(2-(ethylamino)-3-pyridinyl)-5-bromo-3-pyridinecarboxamide 1d (54.9 g, 154.4 mmol) in pyridine (308 mL) at 50 °C was
- 25 added drop-wise a 1 M solution of NaHMDS in THF (355 mL, 355 mmol). After 10 min, the reaction was allowed to cool to room temperature, and then was poured over ice water (2 L). The resulting solid was filtered, rinsed with water and then hexane. The solid was dried under reduced pressure to give compound 1e (36 g, 75% yield) as a dark green solid.

30

Step e:

- To a solution of the 8-bromo-5,11-dihydro-11-ethyl-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one 1e (36.7 g, 115 mmol) in DMF (380 mL) was added NaH (3.5 g, 138 mmol), and the mixture was heated to 50 °C for 30 min. The reaction mixture
- 35 was cooled to room temperature and treated with MeI (14.3 mL, 230 mmol). After 1.5

✓
43

h, the reaction mixture was poured over ice water. The solid was filtered, washed with water and then hexane to give after drying, compound 1f (37.9 g 99% yield) as a dark gray solid.

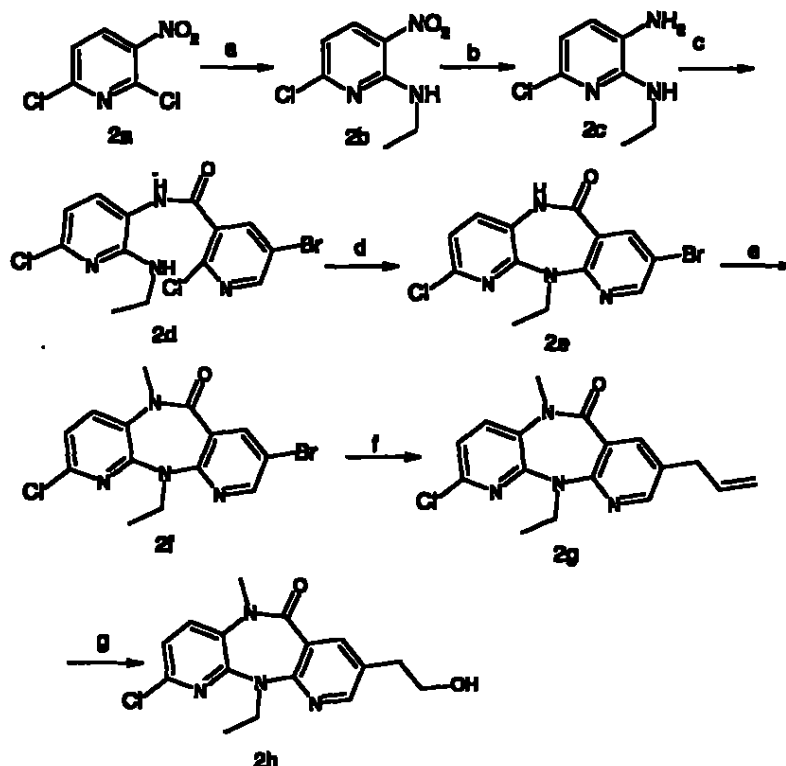
5 **Step f:**

Allyltributyltin (30.7 mL, 99.0 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5.20 g, 4.50 mmol) were added to a degassed (N₂ through solution for 30 min) solution of 8-bromo-5,11-dihydro-11-ethyl-5-methyl-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one 1f (30.0 g, 90.0 mmol) in DMF (450 mL) at room temperature. The mixture was stirred at 90 °C for 1.5 h then
10 was cooled to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane: EtOAc, 8:2 to 7:3) to give compound 1g (22.19 g, 84% yield).

Step g:

15 A stream of ozonized oxygen was bubbled through a cold (-78 °C) solution of 5,11-dihydro-11-ethyl-5-methyl-8-(2-propenyl)-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one 1g (22.19 g, 75.4 mmol) in CH₂Cl₂ (150 mL) and MeOH (150 mL) for 2.5 h. A stream of N₂ was next bubbled through the solution for 15 min and then solid NaBH₄ (4.99 g, 132 mmol) was added to the solution. The reaction mixture was allowed to warm to
20 room temperature. After 1 h, aqueous saturated NH₄Cl (200 mL) was added and the mixture was stirred at room temperature for 2 h. The organic solvents were removed under reduced pressure. Water (300 mL) and CHCl₃ (300 mL) were added to the residue. The phases were separated and the aqueous layer was extracted with CHCl₃ (3 × 300 mL). The combined organic layers were dried (MgSO₄), filtered and
25 concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc:CHCl₃, 4:1) to give compound 1h (16.1 g, 72% yield) as a white solid.

✓2
44

EXAMPLE 2:**Step a:**

An ice-cold solution of EtNH₂ (49.8 g, 1.10 mol) in toluene (200 mL) was added over 15 min to an ice-cold solution of 2,6-dichloro-3-nitropyridine **2a** (100.0 g, 0.52 mol) in toluene (225 mL). The mixture was stirred at 0 °C for 45 min. Water (500 mL) and EtOAc (500 mL) were added and the phases were separated. The organic layer was successively washed with water (200 mL) and brine (200 mL), dried (MgSO₄), filtered and concentrated under reduced pressure. The residual solid was recrystallized from MeOH to give compound **2b** (83.7 g, 80% yield) as yellow needles.

Step b:

Compound **2c** was prepared in a manner analogous to Example I, step b.

Step c:

A solution of 5-bromo-2-chloro-3-pyridinecarbonyl chloride (30.0 g, 97.0 mmol) in MeCN (100 mL) was added via cannula to a solution of 3-amino-6-chloro-2-(ethylamino)pyridine **2c** (16.6 g, 97.0 mmol) in MeCN (180 mL) containing solid

V.3
45

NaHCO₃ (14.2 g, 169 mmol) at room temperature. The mixture was stirred at room temperature for 1 h. Water (200 mL) was added and the mixture was stirred for 10 min. The resulting suspension was filtered. The solid was washed with water then hexane and dried under reduced pressure to give compound 2d (28.4 g, 75% yield).

5

Step d:

A 1 M solution of NaHMDS in THF (167.5 mL, 167.5 mmol) was slowly added to a solution of 5-bromo-2-chloro-*N*-(2-(ethylamino)-8-chloro-3-pyridinyl)-3-pyridinecarboxamide 2d (28.4 g, 72.8 mmol) in pyridine (146 mL) heated to 50 °C. The reaction mixture was stirred at 50 °C for 1.5 h. The mixture was then poured into a mixture of water and ice (1 L) and, after 1 h, the resulting suspension was filtered. The solid washed with water and dried under reduced pressure to give compound 2e (23.4 g, 91% yield).

15 **Step e:**

Solid NaH (60% oil dispersion, 3.46 g, 86.1 mmol) was added over 30 min to a solution of 8-bromo-2-chloro-5,11-dihydro-11-ethyl-6*H*-dipyrido[3,2-b:2',3'-e] [1,4]diazepin-6-one 2e (23.4 g, 86.3 mmol) in DMF (220 mL) at 50 °C. The mixture was stirred at 50 °C for 1 h then was allow to cool to room temperature. The mixture was poured into water (1 L) and the resulting suspension was filtered. The solid was successively washed with water and hexane then dried under reduced pressure to give compound 2f (23.0 g, 94% yield).

25 **Step f:**

Allyltributyltin (21.3 mL, 68.7 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (3.61 g, 3.12 mmol) were added to a degassed (N₂ through solution for 30 min) solution of 8-bromo-2-chloro-5,11-dihydro-11-ethyl-5-methyl-6*H*-dipyrido[3,2-b:2',3'-e] [1,4]diazepin-6-one 2f (23.0 g, 62.5 mmol) in DMF (312 mL). The mixture was heated to 90 °C for 2 h. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc, 7:3) to give compound 2g (13.4 g, 85% yield).

30 **Step g:**

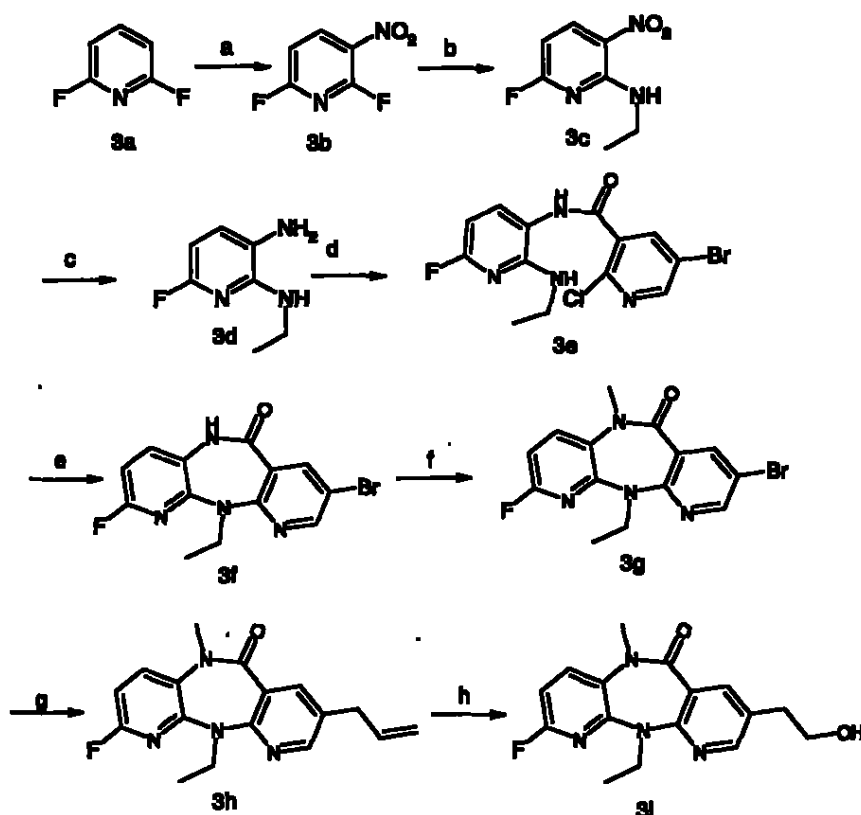
ozonized oxygen was introduced into a cold (-78 °C) solution of 2-chloro-5,11-dihydro-11-ethyl-5-methyl-8-(2-propenyl)-6*H*-dipyrido[3,2-b:2',3'-e] [1,4]diazepin-6-one 2g (13.4 g, 40.7 mmol) in MeOH (102 mL) and CH₂Cl₂ (102 mL) until complete

35

26
26

- disappearance of the alkene. Nitrogen was bubbled through the solution to remove excess O_3 . Solid $NaBH_4$ (2.69 g, 71.1 mmol) was next added in small portions and the mixture was allowed to warm slowly to room temperature. After 1 h, aqueous saturated NH_4Cl (150 mL) was added and the mixture stirred for 20 min. The organic solvents were removed under reduced pressure. Water (100 mL) was added to the aqueous solution. The solution was extracted with $CHCl_3$ (3 x 200 mL). The combined organic layers were dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography ($EtOAc:CHCl_3$, 4:1) to give compound 2h (10.4 g, 77% yield).

10

EXAMPLE 3:**Step a:**

- 15 To a mixture of concentrated sulphuric acid (600 mL) and fuming nitric acid (90%, 400mL) in a ice-bath (internal temperature maintained at 5-10 °C) was added drop-wise 2,6-difluoropyridine **3a** (200 g, 1.74 mol). The resulting mixture was stirred overnight at room temperature. The mixture was poured slowly into 3 kg of ice and extracted with Et_2O (2 x 2 L). The combined organic layers were washed with

✓

47

aqueous 1.5 N NaOH (2 × 1 L), then with aqueous saturated NaHCO₃ (400 mL) or until pH is around 8-9. The organic layers were dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure until constant weight (to remove unreacted 2,6-difluoropyridine: 10-12%). Compound 3b was obtained as a yellow liquid (207.3 g, 74% yield).

Step b:

To a solution of 2,6-difluoro-3-nitropyridine 3b (45.7 g, 285 mmol) in THF (500 mL) at -40 °C was added drop-wise a solution of ethylamine (25.7 g, 570 mmol) in THF (250 mL). After 30 min, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was dissolved in EtOAc. The organic phase was washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated. The resulting yellow solid was purified by flash chromatography (15% EtOAc in hexane) to give compound 3c (43.2 g, 82% yield) as a yellow solid.

Step c:

A solution of 2-ethylamino-6-fluoro-3-nitropyridine 3c (43.2 g, 230 mmol) in THF (1 L) was stirred overnight at room temperature under hydrogen (1 atm.) in the presence of 20% Pd(OH)₂/C (4.35 g). The catalyst was removed by filtration through diatomaceous earth. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give compound 3d (36.3 g, 95% yield) as a black solid.

Step d:

To a cooled solution (4 °C) of 3-amino-2-ethylamino-6-fluoropyridine 3d (31.0 g, 200 mmol) in MeCN (160 mL) was added solid NaHCO₃ (50.4 g, 600 mmol). After 15 min, a solution of 5-bromo-2-chloro-3-pyridinecarbonyl chloride (1 equiv., 200 mmol) in MeCN (155 mL) was added. After 60 min at room temperature, the reaction mixture was poured into water (1.2 L) and stirred for 30 min. The resulting solid was filtered, dried under reduced pressure at 50 °C overnight. Compound 3e (73.7 g, 99% yield) was obtained as a black solid.

Step e:

To a solution of the 2-chloro-N-[2-(ethylamino)-6-fluoro-3-pyridinyl]-5-bromo-3-pyridinecarboxamide 3e (73.5 g, 216 mmol) in pyridine (435 mL) at 50 °C was added drop-wise a 1 M solution of NaHMDS in THF (520 mL, 520 mmol). After 10 min, the

reaction was allowed to cool to room temperature, then poured over ice water (2 L). The resulting solid was filtered, rinsed with water and then hexane. The solid was dried under reduced pressure to give compound 3f (50.6 g, 69% yield) as a dark green solid.

5

Step f:

To a solution of the 8-bromo-5,11-dihydro-11-ethyl-2-fluoro-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one 3f (44 g, 130.5 mmol) in DMF (520 mL) was added NaH (4.28 g, 178 mmol), and the mixture was heated to 50 °C for 30 min. The reaction mixture was cooled to room temperature and treated with MeI (24.4 mL, 522 mmol). After 1.5 h, the reaction mixture was poured over ice water. The solid was filtered, washed with water and then hexane, dried under reduced pressure to give compound 3g (43.2 g, 94% yield) as dark gray solid.

10

15 **Step g:**

Allyltributyltin (32.0 mL, 103.4 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (5.43 g, 4.70 mmol) were added to a degassed (N₂ through solution for 45 min) solution of 8-bromo-5,11-dihydro-11-ethyl-2-fluoro-5-methyl-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one 3g (33.0 g, 94.0 mmol) in DMF (470 mL). Additional amounts of Pd(PPh₃)₄ (1.09 g, 0.94 mmol) were added after 1, 2, 3, 4 and 5 h to complete the reaction. The mixture was heated to 90 °C for 6 h. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc, 8:2 to 7:3) to give compound 3h (22.4 g, 76% yield).

20

25 **Step h:**

A stream of ozonized oxygen was bubbled through a cold (-78 °C) solution of 5,11-dihydro-11-ethyl-2-fluoro-5-methyl-8-(2-propenyl)-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-one 3h (22.38 g, 71.8 mmol) in CH₂Cl₂ (100 mL) and MeOH (100 mL) for 3 h. A stream of N₂ was next bubbled through the solution for 15 min and then solid NaBH₄ (5.05 g, 133 mmol) was added to the solution. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature. After 1 h, an additional portion of NaBH₄ (1.62 g, 43.0 mmol) was added to the reaction mixture. After an additional hour, aqueous saturated NH₄Cl (150 mL) was added and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. The organic solvents were removed under reduced pressure. Water (200 mL) was added and the mixture was extracted with CHCl₃ (3 x 300 mL). The

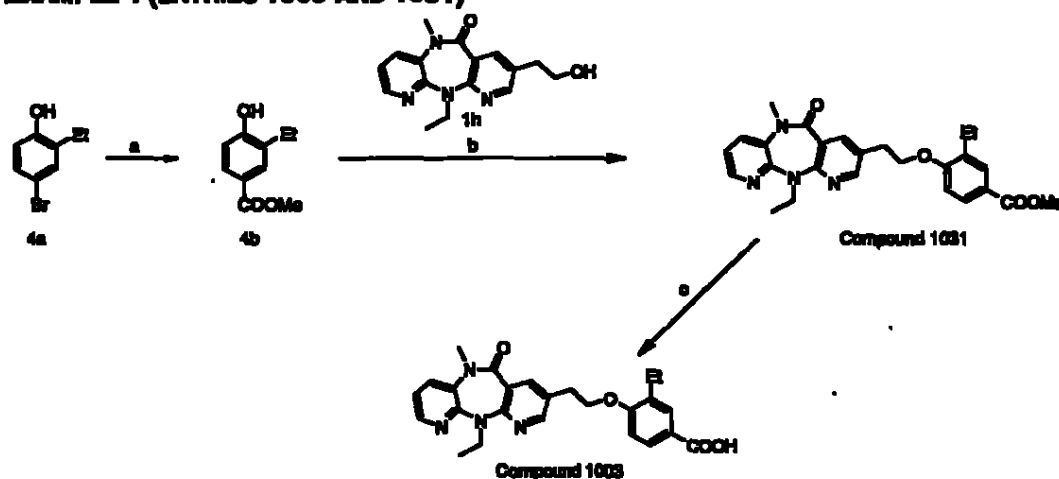
30

35

27
49

combined organic layers were dried (MgSO_4), filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography ($\text{EtOAc}:\text{CHCl}_3$, 4:1) to give compound 3l (19.7 g, 72% yield) as a white solid.

5 **EXAMPLE 4 (ENTRIES 1003 AND 1031)**



Step a:

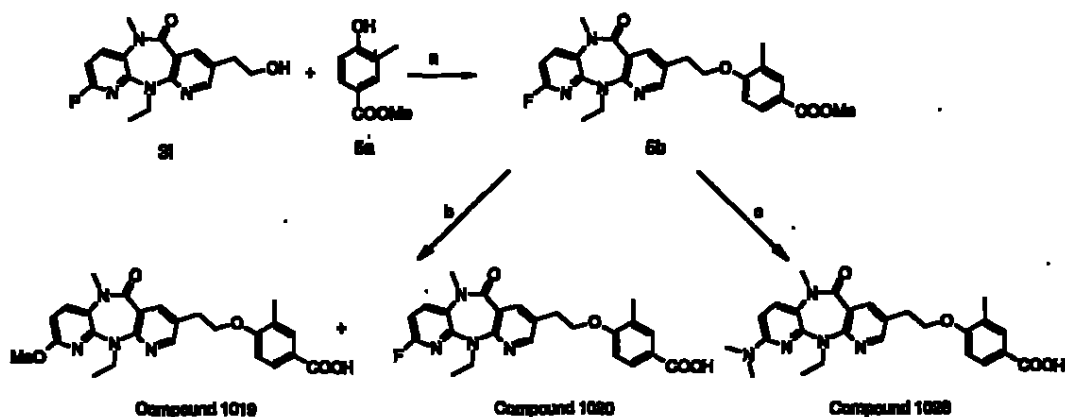
A solution of 1.6 M *n*-BuLi in hexane (8.22 mL, 9.95 mmol) was added rapidly to a cold (-78°C) solution of 4a (0.87 g, 4.33 mmol) in THF (20 mL). The mixture was stirred at -78°C for 10 min, allowed to warm to 0°C and maintained at 0°C for 1 h. A stream of CO_2 was introduced into the reaction mixture for 10 min and the solution was rendered acidic by addition of aqueous 1.0 N HCl solution. The mixture was extracted with EtOAc. The organic layer was dried (MgSO_4), filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was taken in Et_2O (20 mL) and treated with excess CH_2N_2 solution in Et_2O (ca. 0.6 M, 10 mL) for 10 min. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc, 4:1 to 7:3) to give 4b (0.13 g, 17% yield).

Step b:

A solution of DIAD (88 μL , 0.44 mmol) in THF (2.0 mL) was added over 30 min to a solution of 1h (100 mg, 0.33 mmol), 4b (60.0 mg, 0.33 mmol) and PPh_3 (114 mg, 0.44 mmol) in THF (10 mL) at 25°C . The mixture was stirred for 1 h then was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc, 7:3 to 1:1) to give compound 1031 (128 mg, 83% yield).

28
50**Step c:**

A aqueous 1.0 N LiOH solution (1.52 mL, 1.52 mmol) was added to a solution of compound 1031 (100 mg, 0.22 mmol) in THF (8 mL) and MeOH (2 mL). The reaction mixture was stirred at 25 °C for 24 h then was heated to reflux for 1 h. The solution was rendered acidic by addition of aqueous 1.0 N HCl solution then extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water (2 x) and brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was triturated with Et₂O/hexane to give compound 1003 (80 mg, 83% yield) as a white solid. A mixture of compound 1003 (38.0 mg, 0.085 mmol) and aqueous 0.02 N NaOH solution (4.3 mL, 0.085 mmol) in MeCN (3 mL) was sonicated. The resulting solution was frozen and lyophilized to give the corresponding sodium salt (37 mg, 98% yield) as a white solid.

15 EXAMPLE 5 (ENTRIES 1019, 1020 AND 1028)**Step a:**

A solution of DIAD (86 µL, 0.44 mmol) in THF (2.0 mL) was added over 2 h to a solution of 3l (108 mg, 0.34 mmol), 5a (56.0 mg, 0.34 mmol) and PPh₃ (114 mg, 0.44 mmol) in THF (7 mL) at 25 °C. The mixture was stirred for 1 h then was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc, 7:3 to 1:1) to give 5b (115 mg, 73% yield) as a white solid.

25 Step b:

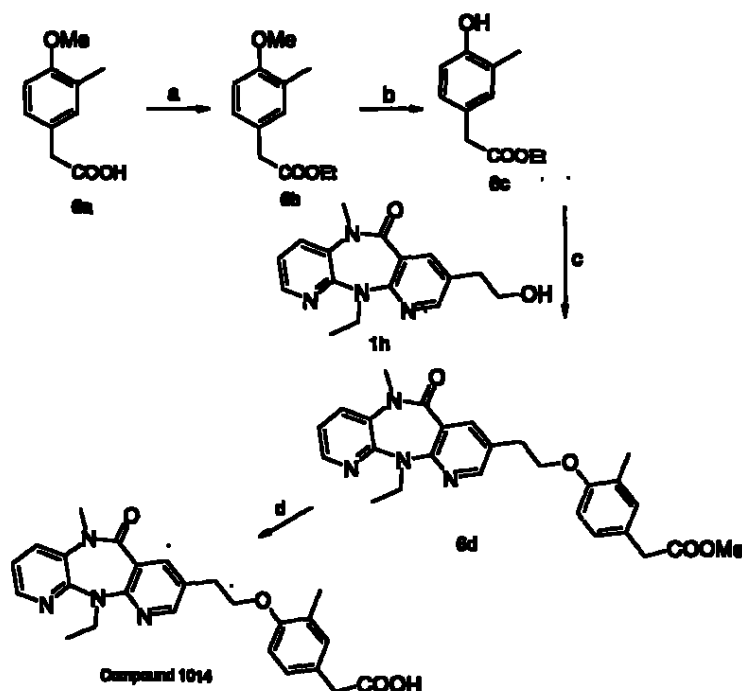
A aqueous 1.0 N LiOH solution (1.0 mL, 1.0 mmol) was added to a solution of 5b (100 mg, 0.21 mmol) in MeOH (6 mL). The reaction mixture was stirred at 25 °C for

29
51

24 h. The solution was rendered acidic by addition of aqueous 1.0 N HCl solution then extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc:AcOH, 50:50:1) to give first
5 compound 1019 (25 mg, 25% yield) as a white solid followed by compound 1020 (48 mg, 50% yield) as a white solid. The corresponding sodium salts were obtained by treatment with aqueous 0.02 N NaOH.

Step c:

10 A 1.0 M dimethylamine solution in THF (5.0 mL, 5.0 mmol) and a aqueous 1.0 N LiOH solution (1.0 mL, 1.0 mmol) were added to a solution of 5b (50.0 mg, 0.11 mmol) in *i*-PrOH (3 mL). The reaction mixture was heated to reflux for 48 h. Aqueous 1.0 N HCl solution (2 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine, dried (MgSO₄), filtered and
15 concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc:AcOH, 50:50:1) to give compound 1028 (18 mg, 35% yield) as a white solid. The corresponding sodium salt was obtained by treatment with aqueous 0.02 N NaOH.

20 EXAMPLE 6 (ENTRY 1014)

50
52

Step a:

To a solution of acid **6a** (1.00 g, 5.55 mmol) in CH_2Cl_2 (50 mL) was added oxalyl chloride (0.73 mL, 8.3 mmol) and DMF (100 μL). The reaction was stirred for 90 min then EtOH (15 mL) was added, and the reaction was stirred an additional hour. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure, the residue was diluted with EtOAc and successively washed with water, brine, dried (MgSO_4), filtered, and concentrated to give ester **6b** used without further purification.

Step b:

To a solution of ester **6b** in CH_2Cl_2 (50 mL) was added a 1 M solution of BBr_3 in CH_2Cl_2 (7.2 mL, 7.20 mmol). After 3 h at room temperature, the reaction mixture was cooled to 0 °C and EtOH (5 mL) was added. The reaction mixture was stirred for 30 min at room temperature then was concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with EtOAc and successively washed with saturated aqueous NaHCO_3 solution, water and brine, dried (MgSO_4), filtered and concentrated to dryness. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc; 70:30) to give phenol **6c** (802 mg, 74 % yield over 2 steps) as a clear gum.

Step c:

A solution of DIAD (87 μL , 0.44 mmol) in THF (2.0 mL) was added over 2 h to a solution of **1h** (100 mg, 0.33 mmol), Ph_3P (104 mg, 0.44 mmol) and phenol **6c** (65 mg, 0.34 mmol) in THF (7.0 mL) at room temperature. The mixture was stirred for 4 h then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:EtOAc; 30:70 to 50:50) to give compound **6d** (46 mg, 29% yield) as a white foam.

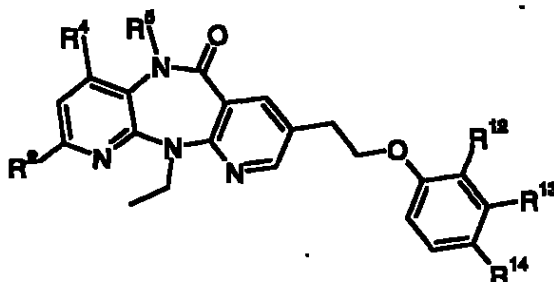
Step d:

To a solution of ester **6d** (44 mg, 0.09 mmol) in a mixture of THF (3 mL) and MeOH (1 mL) was added aqueous 1 N LiOH solution (1.0 mL, 1.0 mmol). After 4 h at room temperature, 1 N HCl (2 mL) was added. The mixture was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine, dried (MgSO_4), filtered and concentrated to dryness to give compound **1014** (39 mg, 93% yield) as a white solid. The corresponding sodium salt was obtained by treatment with 1 equivalent of aqueous sodium hydroxide, and the resulting solution was lyophilized to give a fluffy

51
53

white solid.

TABLE 1



Cpd. Entry #	R ²	R ⁴	R ⁵	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴	MS (ESI) m/z (MH) ⁺
1001	H	H	Me	Me	Me	COOH	447
1002	H	H	Me	Me	H	COOH	433
1003	H	H	Me	Et	H	COOH	447
1004	H	H	Me	Me	OH	COOH	449
1005	H	H	Me	Br	H	COOH	497/499
1006	H	H	Me	Me	H	CHMeCOOH	481
1007	Cl	H	Me	Me	H	CH ₂ CH ₂ COOH	495/497
1008	H	H	Me	Me	H	CH ₂ CH ₂ COOH	481
1009	Cl	H	Me	Me	H	CH=CHCOOH	483/485
1010	H	H	Me	Me	H	CH=CHCOOH	459
1011	H	H	Me	Cl	H	CH ₂ COOH	467/469
1012	H	H	Me	Br	H	CH ₂ COOH	511/513
1013	H	H	Me	Me	Me	CH ₂ COOH	481
1014	H	H	Me	Me	H	CH ₂ COOH	447
1015	Cl	H	Me	Me	H	COOH	467/469
1016	Cl	Me	H	Me	H	COOH	467/469
1017	Me	H	Me	Me	H	COOH	447
1018	H	Me	H	Me	H	COOH	433
1019	OMe	H	Me	Me	H	COOH	463
1020	F	H	Me	Me	H	COOH	451
1021	OEt	H	Me	Me	H	COOH	477
1022	H	H	Me	NO ₂	H	COOH	484
1023	H	H	Me	Cl	H	COOH	453/455
1024	H	H	Me	H	NH ₂	COOH	434
1025	H	H	Me	H	F	COOH	497
1026	H	H	Me	H	Cl	COOH	453/455
1027	H	H	Me	CF ₃	H	COOH	487

52
54

Cpd. Entry #	R ¹	R ²	R ³	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴	MS (ESI) m/z (MH) ⁺
1028	N(Me) ₂	H	Me	Me	H	COOH	476
1029	H	H	H	Me	H	COOH	419
1030	H	H	Me	Me	H	COOMe	447
1031	H	H	Me	Et	H	COOMe	461
1032	H	H	Me	Cl	H	COOMe	457/469
1033	H	H	Me	CF ₃	H	COOMe	501
1034	OEt	H	Me	Me	H	COOMe	491
1035	H	H	Me	H	F	COOMe	451

63
55

REVERSE TRANSCRIPTASE (RT) ASSAYS

Assay Theory:

Among the enzymes for which Human Immunodeficiency Virus (HIV-1) encodes is a reverse transcriptase (1), so-named because it transcribes a DNA copy from an RNA template. This activity can be quantitatively measured in a cell-free enzyme assay and is based upon the observation that reverse transcriptase is able to use a synthetic template poly r(C) primed with a biotinylated oligo d(G) to transcribe a radio-labeled DNA strand utilizing 3H-dGTP as a substrate. The assay described below utilizes the wild-type enzyme (which is the predominant form of the enzyme observed in patients infected with HIV-1) and can also be used with mutant RT enzymes (for example, Y181C, prepared by site-directed mutagenesis in which the tyrosine residue at codon 181 has been replaced by a cysteine residue) in analogous assay conditions. This assay allows compound to be evaluated for their effectiveness at inhibiting the mutant enzymes.

Materials:

a) Preparation of the enzyme

Some HIV-1 IIIIB clone BH10 RT mutants were provided by Dr. C.-K. Shih (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc., U.S.A.) in the vector pKK233-2 (Pharmacia). Briefly an HIV RT clone pKRT2 containing only the RT p86 gene regulated by the lac operon/trc promoter was obtained from Dr. W. Summers (Yale University) (2). A variety of specific amino acid substitutions were introduced into the wild-type RT gene by site-directed mutagenesis. RT clones were subcloned into the pKK233-2 bacterial expression vector. Clones provided included wild-type, Val106Ala, Tyr181Cys, Tyr188Cys, Tyr188Leu, Gly190Ala and Pro238Leu. Others were made in-house by site-directed mutagenesis of the pKK233-2 RT clones including Lys103Asn, Lys103Asn/Tyr181Cys, Lys103Asn/Leu100Ile, Lys103Asn/Pro225His, and Lys103Asn/Val108Ile.

b) Purification of Enzyme

Purification of recombinant reverse transcriptase was performed using a combination of methods previously described (3). A single colony from a fresh plate of transformed JM109 cells was used to initiate growth of a pre-culture grown o/n at 37°C. Two liters of growth medium were inoculated with this pre-culture. At OD₆₀₀ ~

~~57~~
56

1.5 (5–6 h at 37°C), RT gene expression was induced with IPTG (1 mM final), and the fermentation was continued for a few more hours at 37 °C. After centrifugation, supernatants were discarded while cell pellets were pooled and stored at –80 °C until purification. Cells were thawed at 4 °C overnight and suspended in lysis buffer

5 (MES 50mM pH 6, EDTA 1mM, 10% v/v glycerol, 0.02% w/v OBG, 0.02% w/v sodium azide). Lysozyme was added and the mixture was incubated on ice for 40 minutes. After homogenization using a Dounce in presence of lysozyme and sonication, the cells were centrifuged for 30 minutes. Supernatant (S1) was saved and stored at 4°C. The centrifuged pellet was resuspended in extraction buffer (MES

10 50mM pH 6, KPO₄ 50 mM pH 6, KCl 100mM, 10% v/v glycerol, 0.02% w/v OBG, 0.02% w/v sodium azide) and stirred for 30 minutes at 4°C. This second mixture was centrifuged again and the supernatant (S2) was saved. The above procedure was repeated 2 more times saving supernatants S3 and S4 and one last extraction was performed overnight (S5). Polymix P (0.005% final) was added to the combined

15 supernatants to remove nucleic acids. This solution was stirred for 75 minutes at 4 °C and centrifuged for 1 h. The supernatant (SS1) was precipitated on ice with 20% w/v ammonium sulfate and stirred for 1 h at 4 °C. The mixture was then centrifuged and the resulting supernatant (SS2) was precipitated with additional 40% w/v ammonium sulfate (60% total), stirred for 1 h and centrifuged again. The final pellet

20 (P1) was stored overnight at 4 °C before undergoing purification the following day. All steps of the purification were performed at 4 °C unless otherwise stated. Pellet (P1) was resuspended into MES 50mM pH 6, KPO₄ 10 mM pH 6, KCl 100mM, 10% v/v glycerol, 0.02% w/v OBG, 0.02% w/v sodium azide. The suspension was dialyzed against the same buffer overnight using 12–14kD MWCO dialysis tubing.

25 The dialysate was centrifuged and the supernatant was filtered through Millex-PF 0.8 µm filter units. The filtered sample was loaded on a Hydroxy Apatite column (30-mL bed volume) and washed with the same buffer. The bound enzyme was eluted with ~220 mL of a linear gradient of 10 to 300mM KPO₄ in the above buffer. The fractions containing p66/p51 heterodimer (as determined by SDS-PAGE 8% and Western blotting) were pooled for the next column. The RT containing fractions were diluted

30 two-fold with Bis-Tris propane 50 mM pH 7.0, 0.02% w/v OBG, 10% v/v glycerol, 0.02% w/v sodium azide and loaded on a Hi-Trap Heparin Sepharose column (5-mL bed volume) and washed with the same buffer. The bound RT was then eluted with 75 mL of a linear gradient of 0 to 1 M ammonium sulfate in the same buffer. RT-

55
57

containing fractions were pooled according to SDS-PAGE and Western blotting analyses. Protein concentration of this pool was determined by the Bradford method using BSA as standard. The final enzyme preparation was dialyzed in MES 50mM pH 6, KPO₄ 300 mM pH 6, KCl 175mM, 10% v/v glycerol, 0.02% w/v sodium azide and aliquoted and frozen at -80° C.

ASSAY PROCEDURE:

The radiometric enzyme assay has been adapted to a 96-well microtiter plate format and uses streptavidin scintillation proximity beads. The assay is briefly described below. The HIV-1 RT enzyme was thawed and appropriately diluted into Tris/HCl 50 mM pH 7.8 containing NaCl 60mM, MgCl₂ hexahydrate 2mM, DTT 6mM, GSH 2mM and 0.02% w/v Chaps to give ~3 nM enzyme. To 30 µL of this enzyme solution was added 10 µL of inhibitor solution (50 µM to 2.5 nM inhibitor in same assay buffer as above containing 15% v/v DMSO). The plate was pre-incubated for 15 minutes at room temperature before proceeding to the next step. In this pre-incubation step, the highest and lowest inhibitor concentrations were 12.5 µM and 0.62 nM respectively and the concentration of DMSO was 3.75% v/v. Then the enzymatic reaction was initiated by addition of 10 µL of substrate solution. The final reaction mixture contained Tris/HCl 50 mM pH 7.8, NaCl 60 mM, MgCl₂·6H₂O 2 mM, DTT 6 mM, GSH 2 mM, Chaps 0.02% w/v DMSO 3% v/v, Poly rC 179 nM, Biotin dG₁₈ 18 nM, dGTP 288 nM, ³H-dGTP 71nM, and 1-2 nM enzyme.

In this incubation step, the highest and lowest inhibitor concentrations were 10 µM and 0.5 nM respectively. After addition of substrates, the plate was covered with a plastic seal and incubated for 1 hour at 37°C in a dry incubator. Then the reaction was quenched by addition of 75 µL of EDTA 0.5M containing 5mg/mL of streptavidin scintillation proximity beads.

The plate was shaken for 2 minutes at medium speed and incubated 1 hour at room temperature. Then 75 µL of cesium chloride 7 M solution was added, the plate was shaken for 2 minutes at medium speed and incubated again for 1 hour at room temperature. The plate was then covered with a plastic seal and counted using the TopCount-NXT™ Microplate Scintillation & Luminescence Counter, (Packard). Each well was counted for 60 seconds. Each row contained at its extremities a blank and a control well.

The calculation for percent inhibition is as follows:

58
58

$$\% \cdot inhibition = \left(1 - \left[\frac{cpm \cdot well - cpm \cdot blank}{cpm \cdot control - cpm \cdot blank} \right] \right) * 100$$

Using the above assay, compound of the invention was tested for inhibition of RT wild-type (WT) and mutant enzymes. The results are listed in Table 4, as IC_{50} (nM).

- 5 To confirm the ability of the compound to inhibit HIV replication, it was also tested in the human T-Cell Culture (Syncytia) Assay described below.

ELISA assay for assessment of activity in cell culture

- 10 The compound of the invention was tested for its ability to inhibit HIV replication in cell culture in a 96-well plate assay. Complete RPMI 1640, consisting of RPMI 1640 + 10% fetal bovine serum, 10 µg/ml gentamycin and 10 µM β-mercaptoethanol was used for dilution of the compound as well as cell growth medium. The T lymphocyte cell line C8166 was infected at a multiplicity of infection of 0.001 with viruses coding
15 for wild type and mutant reverse transcriptase. Cells were then incubated for three days in the presence of serial dilutions of the compound of the invention. The supernatant was pooled from eight replica wells and the concentration of extracellular p24 was determined using a commercially available HIV-1 p24 antigen assay kit (Beckman-Coulter®). The level of inhibition (% inhibition) was calculated
20 with the following equation:

$$\% \cdot inhibition = \left(1 - \left[\frac{p24 \text{ pg / mL} \cdot inhibitor}{p24 \text{ pg / mL} \cdot control} \right] \right) * 100$$

The results are listed in Table 2, as EC_{50} (nM).

REFERENCES (INCORPORATED HEREIN BY REFERENCE)

- 25 1. Benn, S., et al. Science 230:949, 1985.
2. D'Aquila, R. T. and Summers, W. C. J. Acq. Imm. Def. Syn. 2:579, 1989.
3. a) Warren, T. C. et al. Protein Expression & Purification 3:479, 1992; b) Kohlsaedt, L. A. Science 256(5085): 1783, 1992.

59

TABLE 2

Inhibition of Wild type and mutant strains of RT for compound of formula I

Entry #	IC ₅₀ (WT) (nM)	IC ₅₀ K103N/ Y181C (nM)	EC ₅₀ (WT) (nM)	EC ₅₀ K103N/ Y181C (nM)
1001	C	A	C	C
1002	C	A	C	C
1003	C	A	C	C
1004	C	A	C	A
1005	C	A	C	C
1006	C	A	NT	NT
1007	C	B	C	B
1008	C	A	C	A
1009	C	C	C	C
1010	C	C	C	C
1011	C	A	NT	NT
1012	C	A	NT	NT
1013	C	A	NT	NT
1014	C	A	C	A
1015	C	B	C	C
1016	C	A	NT	NT
1017	C	A	C	C
1018	C	A	C	C
1019	C	A	C	C
1020	C	A	C	C
1021	C	A	NT	NT
1022	B	A	B	A
1023	B	A	C	A
1024	C	A	NT	NT
1025	B	NT	NT	NT
1026	B	NT	NT	NT
1027	B	A	NT	NT
1028	C	A	NT	NT
1029	C	A	C	NT

~~58~~
60

Entry #	IC ₅₀ (WT) (nM)	IC ₅₀ K103N/ Y181C (nM)	EC ₅₀ (WT) (nM)	EC ₅₀ K103N/ Y181C (nM)
1030	C	C	C	C
1031	C	C	NT	NT
1032	C	C	NT	NT
1033	C	A	NT	NT
1034	C	B	NT	NT
1035	C	A	NT	NT

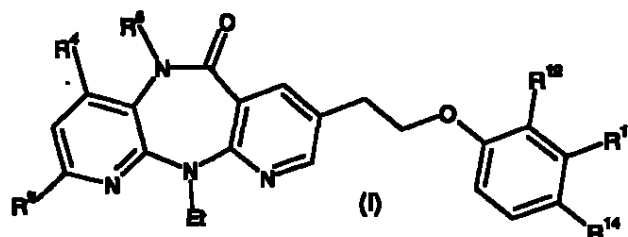
Table legend:

IC₅₀ and EC₅₀: A = >100 nM; B = 100 nM - 50 nM; C = <50 nM; and
NT = Not tested

61

CLAIMS

1. A compound of formula I:



wherein

R^2 is H, halogen, (C_{1-4}) alkyl, $O(C_{1-4})$ alkyl, $NH(C_{1-4})$ alkyl or $N(C_{1-4})$ alkyl)₂;

R^4 is H or CH_3 ;

R^5 is H or CH_3 , provided that R^4 and R^5 are not both the same;

R^{12} is H, halogen, (C_{1-4}) alkyl, CF_3 , or NO_2 ;

R^{13} is H, (C_{1-4}) alkyl, halogen, OH, or NH_2 , with the proviso that R^{12} and R^{13} are not both H; and

R^{14} is $COOR^{14a}$ wherein R^{14a} is H or (C_{1-4}) alkyl; or R^{14} is (C_{2-4}) alkenyl- $COOR^{14a}$

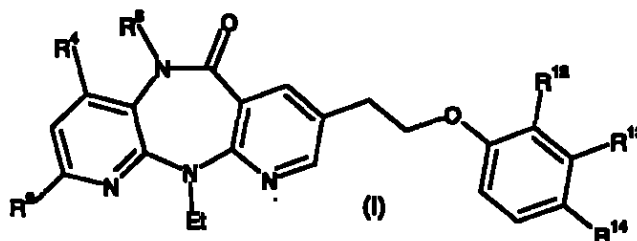
wherein R^{14a} is as defined herein; or R^{14} is (C_{1-4}) alkyl- $COOR^{14a}$ wherein R^{14a} is as defined above;

or a salt or a prodrug thereof.

2. The compound according to claim 1, wherein R^2 is H, halogen, (C_{1-4}) alkyl, $O(C_{1-4})$ alkyl or $N(C_{1-4})$ alkyl)₂ and R^4 and R^5 are not both the same.
3. The compound according to claim 2, wherein R^2 is H, Cl, F, (C_{1-4}) alkyl, $O(C_{1-4})$ alkyl, or $N(C_{1-4})$ alkyl)₂.
4. The compound according to claim 3, wherein R^2 is H, Cl, F, CH_3 , OMe, or OEt.
5. The compound according to claim 4, wherein R^2 is H.
6. The compound according to claim 1, wherein R^4 is H.
7. The compound according to claim 1, wherein R^5 is CH_3 .

60
62

8. The compound according to claim 1, wherein R^{12} is halogen, (C_{1-4}) alkyl, CF_3 , or NO_2 .
9. The compound according to claim 8, wherein R^{12} is Br, Cl, CH_3 or CH_2CH_3 .
10. The compound according to claim 9, wherein R^{12} is CH_3 or CH_2CH_3 .
11. The compound according to claim 1, wherein R^{13} is H, CH_3 , halogen, OH, or NH_2 .
12. The compound according to claim 11, wherein R^{13} is H, CH_3 , or OH.
13. The compound according to claim 12, wherein R^{13} is H.
14. The compound according to claim 1, wherein R^{14} is $COOH$, $COOMe$, (C_{2-4}) alkenyl- $COOH$, or (C_{1-4}) alkyl- $COOH$.
15. The compound according to claim 14, wherein R^{14} is $COOH$, $CH=CH-COOH$, CH_2COOH , or CH_2CH_2COOH .
16. The compound according to claim 15, wherein R^{14} is $COOH$.
17. A compound of formula (I) according to claim 1:



wherein

R^2 is H, Cl, F, CH_3 , OMe or OEt; R^1 is H; R^3 is CH_3 ; R^{12} is Br, Cl, CH_3 or CH_2CH_3 ; R^{13} is H, CH_3 or OH; and R^{14} is $COOH$, $CH=CH-COOH$, CH_2COOH or CH_2CH_2COOH ; or a salt or a prodrug thereof.

~~61~~
63

18. A compound according to claim 17, wherein R^2 is H; R^4 is H; R^5 is CH_3 ; R^{12} is CH_3 or CH_2CH_3 ; R^{13} is H; and R^{14} is $COOH$; or a salt or a prodrug thereof.
19. A pharmaceutical composition for the treatment or prevention of HIV infection, comprising a compound of formula I, according to claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier.
20. A method for the treatment or prevention of HIV infection, comprising administering to a patient an HIV inhibiting amount of a compound of formula I, according to claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
21. A method for the treatment or prevention of HIV infection, comprising administering to a patient an HIV inhibiting amount of a pharmaceutical composition, according to claim 19, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
22. A method for treating or preventing HIV infection comprising administering a compound of formula I, according to claim 1, in combination with an antiretroviral drug.
23. A method for preventing perinatal transmission of HIV-1 from mother to baby, comprising administering a compound of formula I, according to claim 1, to the mother before giving birth.
24. Use of a compound of formula I according to claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of HIV infection.
25. Use of a compound of formula I according to claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for the manufacture of a medicament for the prevention of perinatal transmission of HIV-1 from mother to baby before giving birth.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/CA 03/00418

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D471/14 A61K31/55 A61P31/18 //(C07D471/14,243:00,
221:00,221:00)

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

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)

CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,Y	WO 02 076982 A (BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) LTD.) 3 October 2002 (2002-10-03) claims 1-66	1-25
P,Y	WO 03 011862 A (BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) LTD.) 13 February 2003 (2003-02-13) claims 1-43	1-25
Y	WO 01 96338 A (BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) LTD.) 20 December 2001 (2001-12-20) claims 1-20	1-24
X	EP 0 767 172 A (BOEHRINGER INGELHEIM PHARMACEUTICALS INC.) 9 April 1997 (1997-04-09) claims 1-10	1-25
	-/-	



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(s) 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
- "A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 June 2003

Date of mailing of the international search report

30/06/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5816 Patentkan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-8040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Herz, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/CA 03/0041863
65

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 705 499 A (C. L. CYWIN ET AL.) 6 January 1998 (1998-01-06) claims 1-10	1-25
Y	C. L. CYWIN ET AL.: "Novel Nonnucleoside Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase. 8. 8-Aryloxymethyl- and 8-Arylthiomethyldipyridodiazepinones" J. MED. CHEM., vol. 41, no. 16, 1998, pages 2972-2984, XP002244534 tables 1,2,4,5	1-25
Y	J. M. KLUNDER ET AL.: "Novel Nonnucleoside Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase. 7. 8-Arylethyldipyridodiazepinones as Potent Broad-Spectrum Inhibitors of Wild-Type and Mutant Enzymes" J. MED. CHEM., vol. 41, no. 16, 1998, pages 2960-2971, XP002244535 tables 1-5	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/CA 03/00418

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02076982	A	03-10-2002	WO 02076982 A2 US 2003069226 A1	03-10-2002 10-04-2003
WO 03011862	A	13-02-2003	WO 03011862 A1	13-02-2003
WO 0196338	A	20-12-2001	AU 7037001 A BR 0102377 A WO 0196338 A1 CZ 20024114 A3 EP 1294720 A1 NO 20025844 A US 2002028807 A1	24-12-2001 19-02-2002 20-12-2001 16-04-2003 26-03-2003 05-12-2002 07-03-2002
EP 767172	A	09-04-1997	AT 235495 T CA 2187146 A1 DE 69626915 D1 EP 0767172 A1 JP 9188680 A US 5705499 A	15-04-2003 07-04-1997 30-04-2003 09-04-1997 22-07-1997 06-01-1998
US 5705499	A	06-01-1998	AT 235495 T CA 2187146 A1 DE 69626915 D1 EP 0767172 A1 JP 9188680 A	15-04-2003 07-04-1997 30-04-2003 09-04-1997 22-07-1997

PCT REQUEST

13/103PCT

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.03.2003 03:34:47 PM

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	PCT/CA 03 / 00418
0-2	International Filing Date	24 MARCH 2003 4.03.03
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	EO/CA
0-4	Form - PCT/RO/101 PCT Request Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.01.2003)
0-5	Petition The undersigned requests that the present International application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	Canadian Patent Office (RO/CA)
0-7	Applicant's or agent's file reference	13/103PCT
I	Title of invention	NON-NUCLEOSIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS
II	Applicant	
II-1	This person is:	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH
II-5	Address:	Ringer Strasse 173 D-55216 Ingelheim am Rhein Germany
II-6	State of nationality	DE
II-7	State of residence	DE
II-8	Telephone No.	49-6132-77-2326
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is:	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	O'MEARA, Jeffrey
III-1-5	Address:	2100 Cunard Street Laval, Québec H7S 2G5 Canada
III-1-6	State of nationality	CA
III-1-7	State of residence	CA

13/103PCT
 03/03
 03/03
 03/03

PCT REQUEST

13/103PCT

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.03.2003 09:34:47 PM

III-2	Applicant and/or inventor	
III-2-1	This person is:	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	SIMONEAU, Bruno
III-2-5	Address:	2100 Cunard Street Laval, Québec H7S 2G5 Canada
III-2-6	State of nationality	CA
III-2-7	State of residence	CA
III-3	Applicant and/or inventor	
III-3-1	This person is:	applicant and inventor
III-3-2	Applicant for	US only
III-3-4	Name (LAST, First)	YOKIM, Christiane
III-3-5	Address:	2100 Cunard Street Laval, Québec H7S 2G5 Canada
III-3-6	State of nationality	CA
III-3-7	State of residence	CA
III-4	Applicant and/or inventor	
III-4-1	This person is:	applicant and inventor
III-4-2	Applicant for	US only
III-4-4	Name (LAST, First)	DÉZIEL, Robert
III-4-5	Address:	546 Chester Mont-Royal, Québec H3R 1W9 Canada
III-4-6	State of nationality	CA
III-4-7	State of residence	CA
III-5	Applicant and/or inventor	
III-5-1	This person is:	applicant and inventor
III-5-2	Applicant for	US only
III-5-4	Name (LAST, First)	OGILVIE, William, W.
III-5-5	Address:	1999 Woodglen Crescent Ottawa, Ontario K1J 6G7 Canada
III-5-6	State of nationality	CA
III-5-7	State of residence	CA

IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	BERNIER, Louise, G.
IV-1-2	Address:	Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd. 2100 Cunard Street Laval, Québec H7S 2G5 Canada
IV-1-3	Telephone No.	(450) 682-4640
IV-1-4	Facsimile No.	(450) 682-8434
IV-1-5	e-mail	lbernier@lav.boehringer-ingelheim.ca
V	Designation of States	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AP: GE GM KE LS MW ME SD SL SE TE UG ZM EW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AE BY KG KE MD RU TJ TM and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT EP: AT BE BG CHALI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT SE SI SK TR and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT OA: BF BJ CF CG CI CN GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT
V-2	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BE CA CHALI CN CO CR CU CE DE DK DM DE EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KE LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX ME NI NO NZ OM PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL TJ TM TN TR TT TZ UA UG US UZ VC VN YU ZA ZM ZW

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.03.2003 03:34:47 PM

13/103PCT

V-5	Precautionary Designation Statement In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-6 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.		
V-6	Exclusion(s) from precautionary designations	NONE	
VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	27 March 2002 (27.03.2002)	
VI-1-2	Number	60/367,971	
VI-1-3	Country	US	
VII-1	International Searching Authority Chosen	European Patent Office (EPO) (ISA/EP)	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	-	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	
IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	5	-
IX-2	Description	32	-
IX-3	Claims	3	-
IX-4	Abstract	1	EXABST00.TXT
IX-5	Drawings	0	-
IX-7	TOTAL	41	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-13	Priority document(s)	Item(s) VI-1	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract	—	
IX-20	Language of filing of the international application	English	

* Power of attorney enclosed at time of filing

PCT REQUEST

5/5

13/103PCT

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.03.2003 03:34:47 PM

X-1	Signature of applicant, agent or common representative	
X-1-1	Name (LAST, First)	BERNIER, Louise, G.

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	24 MARCH 2003 24.03.03
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	✓
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/EP
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.03.2003 09:34:47 PM

13/103PCT

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

0	For receiving Office use only			
0-1	International Application No.	PCT/CA 03./ 00418		
0-2	Date stamp of the receiving Office	24 MARCH 2003 24.03.03		
0-4	Form - PCT/RO/101 (Annex) PCT Fee Calculation Sheet			
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.01.2003)		
0-6	Applicant's or agent's file reference	13/103PCT		
2	Applicant	BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH, et al.		
12	Calculation of prescribed fees	fee amount/multiplier	Total amounts (CAD)	
12-1	Transmittal fee T	⇒	200	
12-2-1	Search fee S	⇒	1,440	
12-2-2	International search to be carried out by	IP		
12-3	International fee			
	Basic fee (first 30 sheets) b1	639		
12-4	Remaining sheets	11		
12-5	Additional amount (X)	15		
12-6	Total additional amount b2	165		
12-7	b1 + b2 = B	804		
12-8	Designation fees			
	Number of designations contained in international application	95		
12-9	Number of designation fees payable (maximum 5)	5		
12-10	Amount of designation fee (X)	138		
12-11	Total designation fees D	690		
12-12	PCT-EASY fee reduction R	-197		
12-13	Total international fee (B+D-R) I	⇒	1,297	
12-17	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+I+P)	⇒	2,937	
12-18	Mode of payment	authorization to charge deposit account		
12-20	Deposit account instructions			
	The receiving Office:	Canadian Patent Office (RO/CA)		
12-20-1	Authorization to charge the total fees indicated above.	✓		
12-20-2	Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	✓		
12-20-3	Authorization to charge the fee for priority document.	✓		
12-21	Deposit account No.	ce1127		
12-22	Date	12 March 2003 (12.03.2003)		

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.03.2003 09:34:47 PM

13/103PCT

73

13-23	Name and signature	BERNIER, Louise, G. <i>Louise G B</i>
-------	--------------------	--

VALIDATION LOG AND REMARKS

13-23	Validation messages Names	Green? Applicant 1.:Facsimile No. missing
13-27	Validation messages Contents	Yellow! The power of attorney or a copy of the general power of attorney will need to be furnished unless all applicants sign the request form.
		Green? The international application contains no drawings. Please verify.
13-28	Validation messages Payment	Green? Please ensure that you have a valid deposit account with the receiving Office selected.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

BERNIER, Louise, G.
Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd.
2100 Cunard Street
Laval, Québec H7S 2G6
Canada

Date of mailing (day/month/year)
25 April 2003 (25.04.03)

Applicant's or agent's file reference
13/103PCT

International application No.
PCT/CA03/00418

International publication date (day/month/year)
Not yet published

International filing date (day/month/year)
24 March 2003 (24.03.03)

Priority date (day/month/year)
27 March 2002 (27.03.02)

IMPORTANT NOTIFICATION

Applicant

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH et al

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
27 Marc 2002 (27.03.02)	60/367,971	US	17 April 2003 (17.04.03)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338.89.95

Authorized officer

Claudio BORTON (Fax 338-8995)

Telephone No. (41-22) 338 8481



Boehringer
Ingelheim

23
25

Letter by Facsimile / Confirmation by Messenger
011-49-89-2399-4465

International Preliminary Examination Authority
European Patent Office
DG-2, Erhardstrasse 27
D-80331 Munich
Germany

Boehringer Ingelheim
(Canada) Ltd.

Bio-Méga Research Division
Patent Department

October 8, 2003

Chapter II Demand for
Patent Application No. PCT/CA03/00418
"Non-Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors"
Applicant: Boehringer Ingelheim International GmbH
Applicant's file reference: 13/103pct

Louise G. Bernier
Telephone 450-682-4640
Telefax 450-682-8434
E-Mail lbernier@
lav.boehringer-ingelheim.com

2100 Cunard Street
Laval (Québec)
Canada H7S 2G3
Telephone 450-682-4640
Telefax 450-682-8434

Madam/Sir:

Please find enclosed a completed Demand requesting International Preliminary Examination of the above-identified international patent application.

In order to support this Demand, the following are enclosed:

- The Demand under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty in Form PCT/IPEA/401;
- Fee calculation sheet;
- Form EPO-1037 for acknowledgement of receipt of the Demand; and
- Money order in the amount of 1689.00 EUR to cover the preliminary examination fee and the handling fee for the above-mentioned application.

Confirmation of entry of the Demand is anticipated in due course. We look forward to receipt of a preliminary examination report in due time.

Yours very truly,

Louise G. Bernier, Ph.D.
Agent for Applicant

Enclosures:	- Form PCT/IPEA/401 (Demand); - Form EPO-1037 (Acknowledgement);	- Fee Calculation Sheet; - Money Order in the amount of 1689.00 EUR
--------------------	--	---

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ _____

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty and hereby elects all eligible States (except where otherwise indicated).

For International Preliminary Examining Authority use only		
Identification of IPEA		Date of receipt of DEMAND
Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION		Applicant's or agent's file reference 13/103pct
International application No. PCT/CA03/00418	International filing date (day/month/year) 24 March 2003 (24.03.2003)	(Earliest) Priority date (day/month/year) 27 March 2002 (27.03.2002)
Title of invention NON-NUCLEOTIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS		
Box No. II APPLICANT(S)		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH Binger Strasse 173 D-55218 Ingelheim GERMANY		Telephone No. 011 49 6132 77 2326
		Facsimile No. 011 49 6132 77 3000
		Teleprinter No.
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: DE		State (that is, country) of residence: DE
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) O'MEARA, Jeffrey 2100 Cunard Street Laval, Québec H7S 2G5 CANADA		
State (that is, country) of nationality: CA		State (that is, country) of residence: CA
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) SIMONEAU, Bruno 2100 Cunard Street Laval, Québec H7S 2G5 CANADA		
State (that is, country) of nationality: CA		State (that is, country) of residence: CA
☒ Further applicants are indicated on a continuation sheet.		

Continuation of Box No. II APPLICANT(S)

*If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the demand.**Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

YOAKIM, Christiane
2100 Cunard Street
Laval, Québec H7S 2G5
CANADA

State (that is, country) of nationality:
CA

State (that is, country) of residence:
CA

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

DÉZIEL, Robert
546 Chester
Mont-Royal, Québec H3R 1W9
CANADA

State (that is, country) of nationality:
CA

State (that is, country) of residence:
CA

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

OGILVIE, William, W.
1999 Woodglen Crescent
Ottawa, Ontario K1J 6G7
CANADA

State (that is, country) of nationality:
CA

State (that is, country) of residence:
CA

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

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

☐ Further applicants are indicated on another continuation sheet.

76
78**Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE**The following person is ☒ agent ☐ common representativeand ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*BERNIER, Louise, G.
c/o Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd.
2100 Cunard Street
Laval, Québec H7S 2G5
CANADA

Telephone No.

(450) 682-4640

Facsimile No.

(450) 682-8434

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.**Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION****Statement concerning amendments:**

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:

☒ the international application as originally filedthe description ☒ as originally filed☐ as amended under Article 34the claims ☒ as originally filed☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)☐ as amended under Article 34the drawings ☒ as originally filed☐ as amended under Article 342. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.3. ☐ The applicant wishes the start of the international preliminary examination to be postponed until the expiration of 20 months from the priority date unless the International Preliminary Examining Authority receives a copy of any amendments made under Article 19 or a notice from the applicant that he does not wish to make such amendments (Rule 69.1(d)). *(This check-box may be marked only where the time limit under Article 19 has not yet expired.)*

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English

☒ which is the language in which the international application was filed.☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.☐ which is the language of publication of the international application.☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.**Box No. V ELECTION OF STATES**The applicant hereby elects all eligible States *(that is, all States which have been designated and which are bound by Chapter II of the PCT)*

excluding the following States which the applicant wishes not to elect:

22
79

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

- | | | |
|--|---|--------|
| 1. translation of international application | : | sheets |
| 2. amendments under Article 34 | : | sheets |
| 3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19 | : | sheets |
| 4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19 | : | sheets |
| 5. letter | : | sheets |
| 6. other (specify) | : | sheets |

For International Preliminary
Examining Authority use only

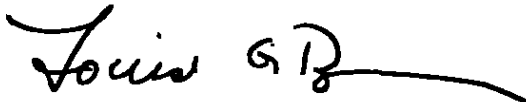
- | received | not received |
|--------------------------|--------------------------|
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ |

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

- | | |
|--|---|
| 1. ☒ fee calculation sheet | 5. ☐ statement explaining lack of signature |
| 2. ☐ original separate power of attorney | 6. ☐ sequence listings in computer readable form |
| 3. ☐ original general power of attorney | 7. ☐ tables in computer readable form related to sequence listings |
| 4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any: | 8. ☐ other (specify): |

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

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


Louise G. BERNIER
Agent for Applicant

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

- | | |
|--|---|
| 3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply. | ☐ The applicant has been informed accordingly. |
| 4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the period of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5. | |
| 5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82. | |

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

PCT

CHAPTER II

FEE CALCULATION SHEET

Annex to the Demand

International application No. PCT/CA03/00418 Applicant's or agent's file reference 13/103pct	For International Preliminary Examining Authority use only Date stamp of the IPEA								
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH									
CALCULATION OF PRESCRIBED FEES 1. Preliminary examination fee 1530.00 EURO P 2. Handling fee (<i>Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the handling fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the amount to be entered at H is 25% of the handling fee.</i>) 159.00 EURO H 3. Total of prescribed fees Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box..... 1689.00 EURO TOTAL									
MODE OF PAYMENT <table style="width: 100%;"> <tr> <td>☐ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)</td> <td>☐ cash</td> </tr> <tr> <td>☐ cheque</td> <td>☐ revenue stamps</td> </tr> <tr> <td>☐ postal money order</td> <td>☐ coupons</td> </tr> <tr> <td>☒ bank draft</td> <td>☐ other (specify):</td> </tr> </table>		☐ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash	☐ cheque	☐ revenue stamps	☐ postal money order	☐ coupons	☒ bank draft	☐ other (specify):
☐ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash								
☐ cheque	☐ revenue stamps								
☐ postal money order	☐ coupons								
☒ bank draft	☐ other (specify):								
AUTHORIZATION TO CHARGE (OR CREDIT) DEPOSIT ACCOUNT (This mode of payment may not be available at all IPEAs) <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> ☐ Authorization to charge the total fees indicated above. ☐ (<i>This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit</i>) Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above. </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> IPEA/ _____ Deposit Account No.: _____ Date: _____ Name: _____ Signature: _____ </td> </tr> </table>		☐ Authorization to charge the total fees indicated above. ☐ (<i>This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit</i>) Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	IPEA/ _____ Deposit Account No.: _____ Date: _____ Name: _____ Signature: _____						
☐ Authorization to charge the total fees indicated above. ☐ (<i>This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit</i>) Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	IPEA/ _____ Deposit Account No.: _____ Date: _____ Name: _____ Signature: _____								

28
80



Europäisches
Patentamt

European
Patent Office

Office européen
des brevets

25
81

Einreicher / Sender / Expéditeur :

(web.pdf 11/88)

☐ D-80288 München
☎ (+49-89) 2389-0
Tx 823 686 apmu d
Fax (+49-89) 23 89-44 65
☐ P.B. 6818 Patentamt 2
NL-2280 HV Rijswijk
☎ (+31-70) 340-3040
Tx 31 681 apo nl
Fax (+31-70) 340-3016
☐ D-10860 Berlin
☎ (+49-30) 25801-0
Fax (+49-30) 25801-840

**Bestätigung über den
Eingang nachgereichter
Unterlagen für Patentan-
meldungen/Patente beim
Europäischen Patentamt**

**Acknowledgement of
receipt for subsequently
filed items relating to
patent applications/patents
at the European Patent
Office**

**Accusé de réception à
l'Office européen des bre-
vets de pièces produites
postérieurement au dépôt
d'une demande de brevet/
à la délivrance d'un brevet
européen**

Datum und Ort des Eingangs sind aus
der Perforation dieser Eingangsbestätig-
ung ersichtlich
(M + Datum = Einreichungsort München;
H + Datum = Einreichungsort Den Haag;
Datum + B = Einreichungsort Berlin)

Date and place of receipt are shown by
the perforation appearing on this receipt
(M + date = Munich as place of receipt;
H + date = The Hague as place of receipt;
date + B = Berlin as place of receipt)

La date et le lieu de réception sont indi-
qués par la perforation du présent accusé
de réception
(M + date = pièces reçues à Munich;
H + date = pièces reçues à La Haye;
date + B = pièces reçues à Berlin)

Eingereichte Unterlagen

Items filed

Pièces envoyées

Anmeldungs- (und Direktions-*) Nr./Patent Nr. Application (and Directorate*) No./Patent No. N° de la demande (et de la direction*)/n° du brevet	Ihr Zeichen Your reference Votre référence	ggfs. Art und Datum der Unterlagen** Nature and date of items (optional)** Nature et date des pièces (suscipiente)**
1 PCT/CA03/00418	13/103pct	PCT Demand for Chapter II
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

* falls bereits bekannt

* if already known

* si déjà connu

** Der Eingang der angegebenen Unterlagen
wird bestätigt.
Enthält diese Spalte keine Eintragungen, so
wird lediglich bestätigt, daß eine Sendung
zu dem angegebenen Aktenzeichen einge-
gangen ist.

** The receipt of the items indicated is
confirmed.
If this column does not contain any entries,
it is only confirmed that an item has been
received for the indicated file.

** La réception des pièces indiquées est
confirmée.
Faute de mention dans cette colonne, le
présent accusé de réception se rapporte à
une pièce quelconque envoyée sous la
référence indiquée.

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT**NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES**

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

BERNIER, Louise, G.
Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd.
2100 Cunard Street
Laval, Québec H7S 2G5
CANADA**PATENT DEPARTMENT****OCT 15 2003**

Agent: _____

Date of mailing(day/month/year)
02 October 2003 (02.10.03)SEARCH updated
Scanned / sent to GmbH
Scanned / sent to BIP (with cost)Applicant's or agent's file reference
13/103PCT

ENP due

SEPT. 28 / 04

IMPORTANT NOTICEInternational application No.
PCT/CA03/00418International filing date(day/month/year)
24 March 2003 (24.03.03)Priority date(day/month/year)
27 March 2002 (27.03.02)

Applicant

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

AU, AZ, BY, CH, CN, CO, DE, DZ, HU, JP, KG, KP, KR, MD, MK, MZ, RU, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AG, AL, AM, AP, AT, BA, BB, BG, BR, BZ, CA, CR, CU, CZ, DK, DM, EA, EC, EE, EP, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, ID, IL, IN, IS, KE, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 02 October 2003 (02.10.03) under No. 03/080612

4. **TIME LIMITS** for filing a demand for international preliminary examination and for entry into the national phase

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a demand for international preliminary examination, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Judith Zahra

PATENT COOPERATION TREATY

PATENT DEPARTMENT

OCT 29 2003

43

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Agent:

BERNIER, Louise, G.

Boehringer Ingelheim

2100 Guénard Street

Laval, Québec H7S 2B6 (with encl.)

Canada

ENP due 28 SEPT 2004

Date of mailing (day/month/year) 22 October 2003 (22.10.03)		IMPORTANT INFORMATION	
Applicant's or agent's file reference 13/103PCT			
International application No. PCT/CA03/00418	International filing date (day/month/year) 24 March 2003 (24.03.03)	Priority date (day/month/year) 27 March 2002 (27.03.02)	
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH et al			

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

EP : AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR.

National : BG, CA, CN, DE, GB, IL, JP, KP, KR, MN, NO, PL, RO, RU, SK, US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

AP : GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW

EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG

National : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BR, BY, BZ, CH, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC,

EE, ES, FI, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IN, IS, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,

MG, MK, MW, MX, MZ, NL, NZ, OM, PH, PT, SC, SD, SE, SG, SI, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ,

VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 38(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 38(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 338.89.85	Authorized officer: Odile ALIU (Fax 338-8995) Telephone No. (41-22) 338 9834
---	--

PATENT COOPERATION TREATY

PATENT DEPARTMENT

OCT 21 2003

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

BERNIER, Louise G.
BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) LTD.
2100 Cunard Street
Laval Quebec H7S 2G5
CANADA

SCHEIDT updated

Scanned / sent to GmbH 7.

Scanned / sent to EIPA (with encl.)

ENP due: Sept. 28 / 2004

NOTIFICATION OF RECEIPT
OF DEMAND BY COMPETENT INTERNATIONAL
PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY(PCT Rules 59.3(e) and 61.1(b), first sentence
and Administrative Instructions, Section 601(a))Date of mailing
(day/month/year)

15-10-2003

Applicant's or agent's file reference

13/103PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/CA 03/ 00418

International filing date (day/month/year)

24/03/2003

Priority date (day/month/year)

27/03/2002

Applicant

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority considers the following date as the date of receipt of the demand for international preliminary examination of the international application:

07/10/2003

2. This date of receipt is:

- ☒ the actual date of receipt of the demand by this Authority (Rule 61.1(b)).
☐ the actual date of receipt of the demand on behalf of this Authority (Rule 59.3(e)).
☐ the date on which this Authority has, in response to the invitation to correct defects in the demand (Form PCT/IPEA/404), received the required corrections.

3. ☐ **ATTENTION:** That date of receipt is **AFTER** the expiration of 19 months from the priority date. Consequently, the election(s) made in the demand does (do) not have the effect of postponing the entry into the national phase until 20 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)). Therefore, the acts for entry into the national phase must be performed within 20 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 22). For details, see the PCT Applicant's Guide, Volume II.

- ☐ (If applicable) This notification confirms the information given by telephone, facsimile transmission or in person on:

4. Only where paragraph 3 applies, a copy of this notification has been sent to the International Bureau.

Name and mailing address of the IPEA/

 European Patent Office
Platz der Minnen

Authorized officer

YFDD VASCHNEITZ M



PATENT COOPERATION TREATY

PATENT DEPARTMENT

JAN 27 2004

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

POT

To:

BERNIER, Louise G.
BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) LTD.
2100 Gouard Street
Laval Quebec H7S 2G5
CANADA

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

ENP due: Sept. 27 / 04
Scanned / sent to GmbH
Scanned / sent to CHPT (with Encl.)
SCHUPO updated

Date of mailing
(day/month/year)

19/01/2004

Applicant's or agent's file reference

13/103PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/CA03/00418

International filing date (day/month/year)

24/03/2003

Priority date (day/month/year)

27/03/2002

Applicant

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH et al.

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

4. REMINDER

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

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

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

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

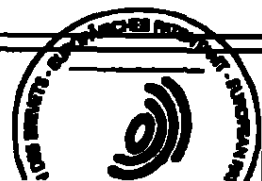
Name and mailing address of the IPEA/



European Patent Office
D-90298 Munich
Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d

Authorized officer

FERRO VASCONCELOS M



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

(Rationalized Report according to the Notice of the President of the EPO published in the OJ11/2001)

Applicant's or agent's file reference 13/103PCT	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/CA03/00418	International filing date (day/month/year) 24/03/2003	Priority date (day/month/year) 27/03/2002
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D471/14		
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH et al.		

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 2 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 consists 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 07/10/2003	Date of completion of this report 14/01/2004
Name and mailing address of the IPEA/  European Patent Office D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523636 epnu d	Authorized officer TZSCHOPPE D A 

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/CA03/00418

87
82

I. Basis of the report

The basis of this international preliminary examination 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 at least some of the claims does not appear to meet the criteria mentioned in Article 33(1) PCT, i.e. does not appear to be novel and/or to involve an inventive step (see international search report, in particular the documents cited X and/or Y and corresponding claim references).

Traducción

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

88
88

Referencia del expediente del agente o solicitante 13/103PCT	PARA ACTUACIONES ADICIONALES Ver notificación de Transmisión del Reporte de Examen Preliminar (Formato PCT/IPEA416)	
Solicitud internacional No. PCT/CA03/00418	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 24/03/2003	Fecha de prioridad (día/mes/año) 27/03/2002
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC C07D 471/14		
Solicitante BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH et al.		

1. Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Administración encargada del Examen Preliminar Internacional y se envía al solicitante en concordancia con el artículo 36.
2. Este INFORME consta de una total de 2 hojas, incluyendo la portada
- ☐ Este Informe también se acompaña de ANEXOS, esto es documentos de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido corregidos y que son la base de este Informe y/o documentos que contienen rectificaciones realizadas ante esta Administración (Ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas según el PCT)

Estos anexos constan de un total de _____ hojas.

3. Este informe contiene indicaciones relativas a los siguientes aspectos:

- I ☒ Fundamentos del Informe
- II ☐ Prioridad
- III ☐ No se establece concepto relativo a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial
- IV ☐ Carencia de unidad de la invención
- V ☒ Declaración razonada según el artículo 35(2), en relación con la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial; citas y explicaciones que soportan dicha declaración
- VI ☐ Ciertos documentos citados
- VII ☐ Ciertos defectos de la solicitud internacional
- VIII ☐ Ciertas observaciones respecto a la solicitud internacional

Fecha de presentación de la demanda 07/10/2003	Fecha de terminación de este reporte 14/01/2004
Nombre y dirección de correo de la autoridad encargada del examen preliminar  Oficina Europea de Patentes D-80286 Munich Tel. +49 89 23699 - 0 Tlx 523656 epmu d Fax: +49 89 23699 - 4465	Funcionario Autorizado TZCHOPPE D A Teléfono No.

Formato PCT/IPEA/408 (portada) (julio 1998)

82
89

I. Bases del informe

La base de este examen preliminar internacional es la solicitud como originalmente se presentó.

V. Declaración motivada según el Artículo 35(2) en cuanto a la novedad, el nivel inventivo y la aplicación industrial; citas y explicaciones que apoyan esta declaración.

A la luz de los documentos citados en el informe de búsqueda internacional, se considera que la invención como se encuentra definida en por lo menos algunas de las reivindicaciones no parecen cumplir con los criterios mencionados en el Artículo 33(1) del PCT, es decir, no parece ser novedosa y/o alcanzar el nivel inventivo (ver informe de búsqueda internacional, en particular los documentos citados con X y/o Y y las correspondientes reivindicaciones referenciadas).

88
90

DIPYRIDODIAZEPINONAS COMO INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

5

La invención se refiere a nuevos compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, a su uso, tanto solos como en combinación con otros agentes terapéuticos, en el tratamiento o la profilaxis de la infección por HIV, y a
10 composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La enfermedad conocida como síndrome de
15 inmunodeficiencia adquirida (SIDA) está provocada por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), en particular la cepa conocida como HIV-1. Para que el HIV sea replicado por una célula hospedante, la información del genoma vírico debe integrarse en el DNA de la célula hospedante. Sin embargo,
20 el HIV es un retrovirus, lo cual significa que su información genética está en forma de RNA. Por tanto, el ciclo de replicación del HIV requiere una etapa de transcripción del genoma vírico (RNA) en DNA, que es lo contrario de la cadena de acontecimientos normal. Una enzima
25 que se ha apodado, de forma apropiada, transcriptasa inversa (reverse transcriptase, RT) realiza la transcripción del RNA vírico en DNA. El virión de HIV incluye una copia de RT junto con el RNA vírico.

La transcriptasa inversa tiene tres funciones
30 enzimáticas conocidas: actúa como una DNA-polimerasa dependiente de RNA, como una ribonucleasa, y como una DNA-polimerasa dependiente de DNA. Cuando actúa como una DNA-polimerasa dependiente de RNA, la RT transcribe una copia monocatenaria de DNA del RNA vírico. Cuando actúa como una
35 ribonucleasa, la RT destruye el RNA vírico original y libera el DNA recién producido a partir del RNA original. Por último, cuando actúa como una DNA-polimerasa dependiente de DNA, la RT fabrica una segunda hebra de DNA complementaria,

utilizando la primera hebra de DNA como molde. Los dos hebras forman un DNA bicatenario, que otra enzima, denominada integrasa, integra en el genoma de la célula hospedante.

5 Los compuestos que inhiben las funciones enzimáticas de la transcriptasa inversa de HIV-1 inhibirán la replicación del HIV-1 en células infectadas. Estos compuestos son útiles en la prevención o el tratamiento de una infección por HIV-1 en sujetos humanos, como se
10 demuestra mediante inhibidores de RT conocidos, como 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), 2',3'-didesoxiinosina (ddI), 2',3'-didesoxicitidina (ddC), d4T, 3TC, nevirapina, delavirdina, efavirenz y abacavir, los principales fármacos que hasta la fecha se han aprobado para su uso en el
15 tratamiento del SIDA.

Al igual que con cualquiera terapia antivírica, el uso de inhibidores de la RT en el tratamiento del SIDA conduce, finalmente, a virus que son menos sensibles al fármaco aplicado. La resistencia (sensibilidad reducida) a estos
20 fármacos es el resultado de mutaciones que se producen en el segmento de transcriptasa inversa del gen pol. Se han caracterizado varias cepas mutantes de HIV, y la resistencia a agentes terapéuticos conocidos es debida a mutaciones en el gen RT. Algunos de los mutantes que se observan más
25 habitualmente en la observación clínica son el mutante Y181C, en el que se ha mutado una tirosina (Y) en el codón 181 a un resto cisteína (C), y el mutante K103N, en el que la lisina (K) en la posición 103 se ha sustituido por asparagina (N). Otros mutantes, que surgen con frecuencia
30 creciente durante el tratamiento con antivíricos conocidos, incluyen los mutantes simples V106A, G190A, Y188C y P236L; y los mutantes dobles K103N/Y181C, K103N/P225H, K103N/V108I y K103N/L100I.

El uso continuado de compuestos antivíricos para
35 evitar una infección por HIV sin duda provocará un mayor surgimiento de nuevas cepas resistentes de HIV. Por tanto, existe una necesidad real de nuevos inhibidores de la RT, con diferentes patrones de efectividad frente a los diversos

90
92

mutantes.

En la patente de EEUU n° 5.366.972 se describen compuestos que tienen estructuras tricíclicas, que son inhibidores del HIV-1. Otros inhibidores de la transcriptasa inversa de HIV-1 se describen en Hargrave et al., J. Med. Chem. 34, 2231 (1991).

La patente de EEUU n° 5.706.499 propone 8-arilalquil- y 8-arilheteroalquil-5,11-dihidro-6H-dipirido[3,2-B:2',3'-E][1,4]diazepinas como inhibidores de la RT. Se demuestra que los ejemplos de los compuestos presentan cierta actividad contra la RT de HIV-1 de tipo salvaje y mutante, en particular Y181C y otros mutantes simples como K103N, aunque con menos eficacia.

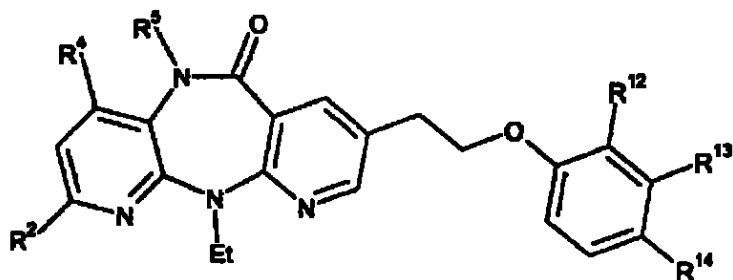
El documento WO 01/96338A1 y la patente de EEUU n° 6.420.359 describen estructuras de diazepina que tienen sustituyentes quinoleína y quinolein-N-óxido, como inhibidores de la RT. Los ejemplos de los compuestos presentan actividad contra cepas de tipo salvaje, simples y dobles de HIV.

20

SUMARIO DE LA INVENCION

La invención proporciona compuestos que contienen ácido benzoico sustituido que son inhibidores potentes de la RT de HIV-1 de cepas de tipo salvaje (TS) y mutantes dobles, en particular de la doble mutación K103N/Y181C.

En un primer aspecto de la invención se proporciona un compuesto de fórmula I:



21
93

en la que

R^2 es H, halógeno, alquilo(C₁₋₄), O(alquilo(C₁₋₄)), NH(alquilo(C₁₋₄)) o N(alquilo(C₁₋₄))₂;

R^4 es H o CH₃;

5 R^5 es H o CH₃;

R^{12} es H, halógeno, alquilo(C₁₋₄), CF₃ o NO₂;

R^{13} es H, alquilo(C₁₋₄), halógeno, OH o NH₂, con la condición de que R^{12} y R^{13} no son ambos H; y

10 R^{14} es COOR^{14a}, en el que R^{14a} es H o alquilo(C₁₋₆); o R^{14} es (alquenil(C₂₋₄))COOR^{14a}, en el que R^{14a} es como se define en la presente; o R^{14} es (alquil(C₁₋₄))COOR^{14a}, en el que R^{14a} es como se define en la presente;

o su sal o profármaco.

15 Según un segundo aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de la infección por HIV, que comprende un compuesto de fórmula I, como se describe en la presente, o su sal farmacéuticamente aceptable, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 Según un tercer aspecto de la invención, se proporciona un método para el tratamiento o prevención de la infección por HIV, que comprende administrar a un paciente una cantidad inhibidora de HIV de un compuesto de fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable, o una composición
25 farmacéutica, ambos definidos en la presente.

Según un cuarto aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar o prevenir una infección por HIV que comprende administrar una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, según
30 se describe en la presente, junto con un fármaco antirretrovírico.

Según un quinto aspecto de la invención, se proporciona un método para evitar la transmisión perinatal del HIV-1 desde la madre al bebé, que comprende administrar
35 un compuesto de fórmula I o una composición farmacéutica, según se describe en la presente, a la madre antes del parto.

92
94

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Definiciones

5 Se aplican las siguientes definiciones, a menos que se indique lo contrario.

 Tal como se utiliza en la presente, los términos "alquilo(C₁₋₂)", "alquilo(C₁₋₄)" y "alquilo(C₁₋₆)", tanto por sí solos como combinados con otro radical, significan
10 radicales alquilo acíclicos que contienen hasta dos, cuatro o seis átomos de carbono, respectivamente. Los ejemplos de estos radicales incluyen metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metiletilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo y 1,1-dimetiletilo.

15 Tal como se utiliza en la presente, el término "alquenilo(C₂₋₄)", tanto por sí solo como combinado con otro radical, significa un radical acíclico insaturado que contiene de dos a cuatro átomos de carbono.

 Tal como se utiliza en la presente, el término
20 "halógeno" significa un átomo de halógeno e incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

 Tal como se utiliza en la presente, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" incluye las sales derivadas de bases farmacéuticamente aceptables y no tóxicas. Los
25 ejemplos de bases adecuadas incluyen colina, etanolamina y etilendiamina. Las sales de Na⁺, K⁺ y Ca⁺⁺ también se contemplan dentro del alcance de la invención (véase también "Pharmaceutical salts", Birge, S.M. et al., J. Pharm. Sci. (1977), 66, 1-19, que se incorpora en la presente como
30 referencia).

 Tal como se utiliza en la presente, el término "profármaco" se refiere a derivados farmacológicamente aceptables, de forma que el producto resultante de la biotransformación del derivado es el fármaco activo, como se
35 define en los compuestos de fórmula I. Los ejemplos de estos derivados incluyen, pero no se limitan a ésteres y amidas (véase Goodman y Gilman, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 9ª edición, McGraw-Hill, Int. Ed., 1995,

93
95

"Biotransformation of Drugs", pp. 11-16, que se incorpora en la presente como referencia).

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

5

Preferiblemente, R^2 es H, halógeno, alquilo(C_{1-4}), O(alquilo(C_{1-4})) o N(alquilo(C_{1-4}))₂. Más preferiblemente, R^2 es H, Cl, F, alquilo(C_{1-4}), O(alquilo(C_{1-4})) o N(alquilo(C_{1-4}))₂. Aún más preferiblemente, R^2 es H, Cl, F, CH₃, OMe u

10 OEt. Lo más preferible, R^2 es H.

Preferiblemente, R^4 y R^5 no son ambos iguales.

Más preferiblemente, R^4 es H.

Más preferiblemente, R^5 es CH₃.

Preferiblemente, R^{12} es halógeno, alquilo(C_{1-4}), CF₃ o
15 NO₂. Más preferiblemente, R^{12} es Br, Cl, CH₃ o CH₃CH₂. Lo más preferible, R^{12} es CH₃ o CH₃CH₂.

Preferiblemente, R^{13} es H, CH₃, halógeno, OH o NH₂. Más preferiblemente, R^{13} es H, CH₃ u OH. Lo más preferible, R^{13} es H.

20 Preferiblemente, R^{14} es COOH, COOMe, (alquenil (C_{2-4}))COOH o (alquil(C_{1-4}))COOH. Más preferiblemente, R^{14} es COOH, CH=CH-COOH, CH₂COOH o CH₂CH₂COOH. Lo más preferible, R^{14} es COOH.

Los compuestos de fórmula I son inhibidores eficaces
25 del HIV de tipo salvaje, y también inhiben la enzima del mutante doble K103N/Y181C.

Los compuestos de fórmula I poseen actividad inhibidora contra la transcriptasa inversa de HIV-1. Cuando se administran en formas de dosificación adecuadas, son
30 útiles en el tratamiento de SIDA, ARC y trastornos relacionados asociados con la infección por HIV-1. Por tanto, otro aspecto de la invención es un método para tratar una infección por HIV-1 que comprende administrar a un ser humano infectado por HIV-1 una cantidad terapéuticamente
35 eficaz de un nuevo compuesto de fórmula I, como se describe anteriormente. Tanto para tratamiento como para profilaxis, el compuesto también puede utilizarse para evitar la transmisión perinatal del HIV-1 desde la madre al bebé,

mediante la administración a la madre antes del parto.

Los compuestos de fórmula I pueden administrarse en dosis únicas o divididas, mediante vía oral o parenteral. Una dosificación oral adecuada para un compuesto de fórmula I se encuentra en el intervalo desde aproximadamente 0,5 mg a 3 g diarios. Una dosificación oral preferida para un compuesto de fórmula I se encuentra en el intervalo desde aproximadamente 100 mg a 800 mg diarios para un paciente que pesa 70 kg. En las formulaciones parenterales, una unidad de dosificación adecuada puede contener desde 0,1 a 250 mg de dicho compuesto, preferiblemente 1 mg a 200 mg. Sin embargo debe entenderse que la administración de la dosificación de un paciente a otro varía, y la dosificación para cualquier paciente concreto depende del criterio del médico, que para fijar una dosificación apropiada debe utilizar los criterios de peso y trastorno del paciente, así como la respuesta del paciente al fármaco.

Cuando los compuestos de la presente invención se administran por vía oral, pueden administrarse como medicamentos en forma de preparaciones farmacéuticas, que los contienen junto con un material vehículo farmacéutico compatible. Este material vehículo puede ser un material vehículo orgánico o inorgánico inerte adecuado para la administración oral. Los ejemplos de estos materiales vehículo son agua, gelatina, talco, almidón, estearato de magnesio, goma arábiga, aceites vegetales, polialquilenglicoles, gelatina de petróleo y similares.

Los compuestos de fórmula I pueden utilizarse junto con un fármaco antirretrovírico conocido por los expertos en la técnica, como una preparación combinada útil para la administración simultánea, separada o secuencial, para tratar o prevenir una infección por HIV en un individuo. Los ejemplos de fármacos antirretrovíricos que pueden utilizarse en una terapia de combinación con los compuestos de fórmula I incluyen, pero no se limitan a inhibidores de la transcriptasa inversa nucleósidos/nucleótidos (como AZT y tenofovir), inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos (como nevirapina), inhibidores de proteasas

(como ritanovir), inhibidores de la fusión vírica (como T-20), antagonistas de CCR5 (como SCH-351125), antagonistas de CXCR4 (como AMD-3100), inhibidores de integrasa (como L-870.810), inhibidores de TAT, otros fármacos de investigación (como PRO-542, BMS-806, TMC-114 o AI-183), agentes antifúngicos o antibacterianos (como fluconazol), y agentes inmunomoduladores (como levamisol). Además, un compuesto de fórmula I puede utilizarse con otro compuesto de fórmula I.

10 Las preparaciones farmacéuticas pueden prepararse de una manera convencional, y las formas de dosificación terminadas pueden ser formas de dosificación sólidas, por ejemplo comprimidos, grageas, cápsulas y similares, o formas de dosificación líquidas, por ejemplo disoluciones, 15 suspensiones, emulsiones y similares. Las preparaciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales como esterilización. Además, las preparaciones farmacéuticas pueden contener adyuvantes convencionales como conservantes, estabilizantes, 20 emulsionantes, mejoradores del aroma, agentes humectantes, tampones, sales para variar la presión osmótica y similares. El material vehículo sólido que puede utilizarse incluye, por ejemplo, almidón, lactosa, manitol, metilcelulosa, celulosa microcristalina, talco, sílice, fosfato de calcio 25 dibásico, y polímeros de alto peso molecular (como polietilenglicol).

Para un uso parenteral, un compuesto de fórmula I puede administrarse en una disolución, suspensión o emulsión acuosa o no acuosa, en un aceite farmacéuticamente aceptable 30 o una mezcla de líquidos, que pueden contener agentes bacteriostáticos, antioxidantes, conservantes, tampones u otros solutos para hacer que la disolución sea isotónica con la sangre, agentes espesantes, agentes suspensores u otros aditivos farmacéuticamente aceptables. Los aditivos de este 35 tipo incluyen, por ejemplo, tampones tartrato, citrato y acetato, etanol, propilenglicol, polietilenglicol, formadores de complejos (como EDTA), antioxidantes (como bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio y ácido

ascórbico), polímeros de alto peso molecular (como poli(óxido de etileno) líquido) para regular la viscosidad, y derivados polietilénicos de anhídridos de sorbitol. También pueden añadirse conservantes si es necesario, como
5 ácido benzoico, metil- o propilparabeno, cloruro de benzalconio y otros compuestos de amonio cuaternario.

Los compuestos de esta invención también pueden administrarse como disoluciones para la aplicación nasal, y pueden contener, además de los compuestos de la invención,
10 tampones adecuados, ajustadores de la tonicidad, conservantes microbianos, antioxidantes, y agentes para aumentar la viscosidad, en un vehículo acuoso. Los ejemplos de agentes utilizados para aumentar la viscosidad son poli(alcohol vinílico), derivados de celulosa,
15 polivinilpirrolidona, polisorbatos o glicerina. Los conservantes microbianos añadidos pueden incluir cloruro de benzalconio, timerosal, clorobutanol o alcohol feniletílico.

Además, los compuestos de la invención pueden administrarse mediante supositorios.

20

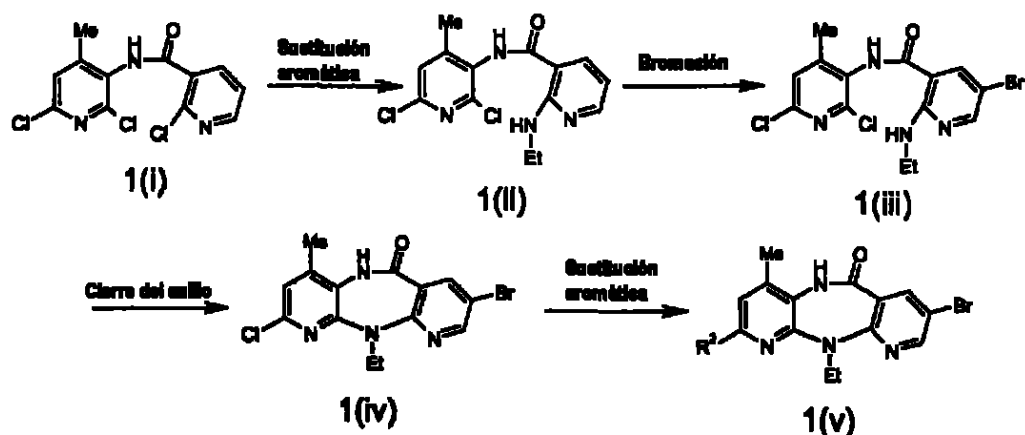
Metodología y síntesis

El compuesto de la invención puede prepararse utilizando las técnicas de un químico orgánico sintético. En
25 los esquemas 1 a 4 a continuación se muestran ejemplos de esquemas de reacción. Los sustituyentes R^2 , R^4 , R^5 , R^{12} , R^{13} y R^{14} son como se definen en la presente.

Esquema 1: Preparación de los intermedios en los que R^4 es

30 Me

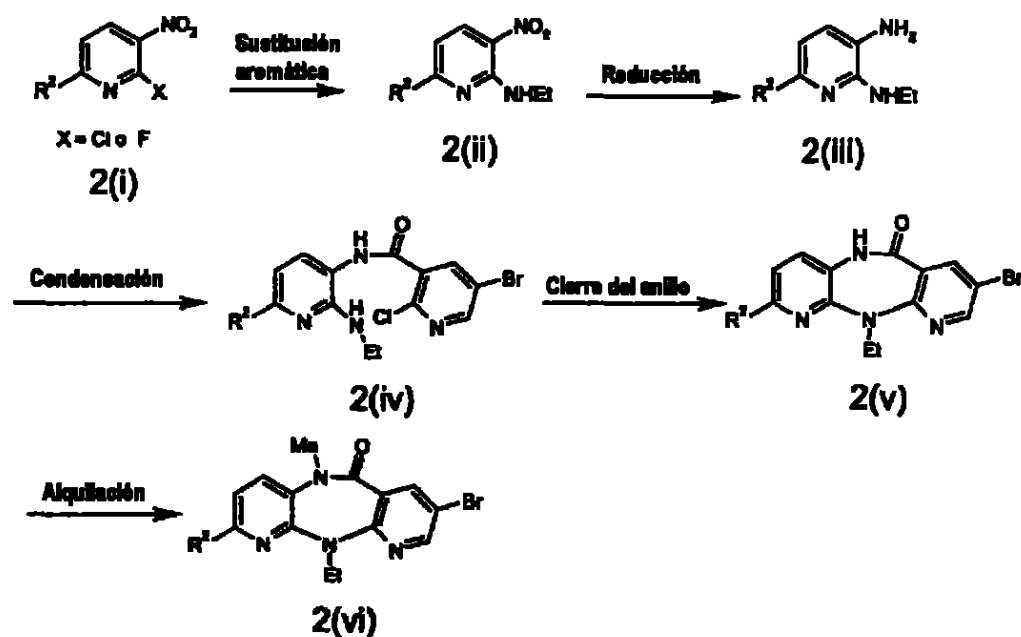
9/2/99



Brevemente, la sustitución aromática (S_NAR) de 1(i) con Et-NH₂ produce el intermedio 1(ii). Después, la halogenación de la posición 5 utilizando un agente de bromación (por ejemplo NBS o bromo) produce 1(iii). El cierre del anillo de 1(iii) mediante una reacción de S_NAR mediada por base forma el intermedio tricíclico 1(iv). La introducción del sustituyente R² se realiza a través de una sustitución aromática del cloro C-2 en 1(iv), produciendo con ello el compuesto intermedio 1(v).

98
100

Esquema 2: Preparación de intermedios en los que R⁵ es Me

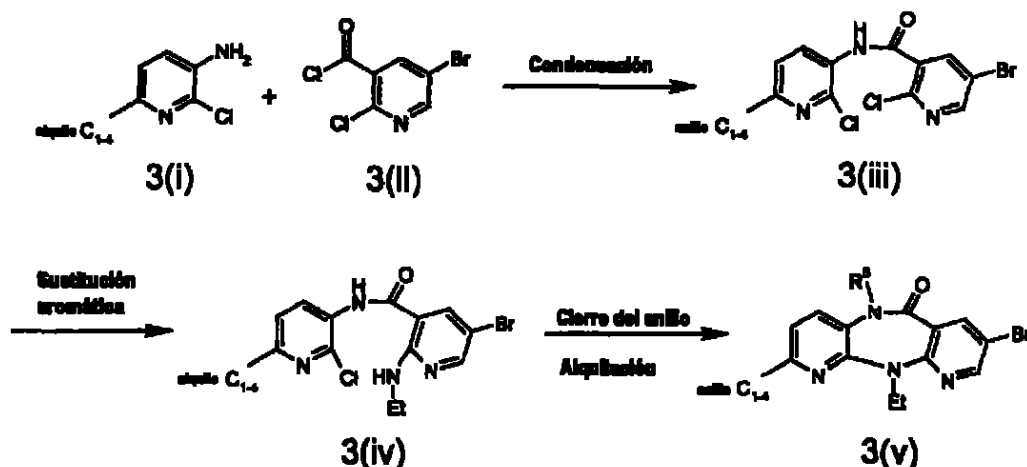


La secuencia del esquema 2 es análoga a la descrita en J.M. Klunder et al., *J. Med. Chem.*, 1998, 41, 2960-2971, y C.L. Cywin et al., *J. Med. Chem.*, 1998, 41, 2974-2984.

5 Brevemente, la sustitución aromática (S_NAR) de 2(i) con Et-NH₂ produce el intermedio 2(ii). La reducción del grupo nitro (por ejemplo, utilizando hidrogenación catalítica) produce 2(iii). Una reacción de condensación mediada por base de 2(iii) con, por ejemplo, cloruro de 5-bromo-2-cloro-10 3-piridincarbonilo, proporciona 2(iv). El cierre del anillo de 2(iv) se realiza a través de una reacción de S_NAR mediada por base, para formar el intermedio tricíclico 2(v). El grupo metilo R⁵ en 2(vi) puede introducirse mediante alquilación conocida en la técnica, utilizando, por ejemplo, 15 yoduro de metilo.

8/101

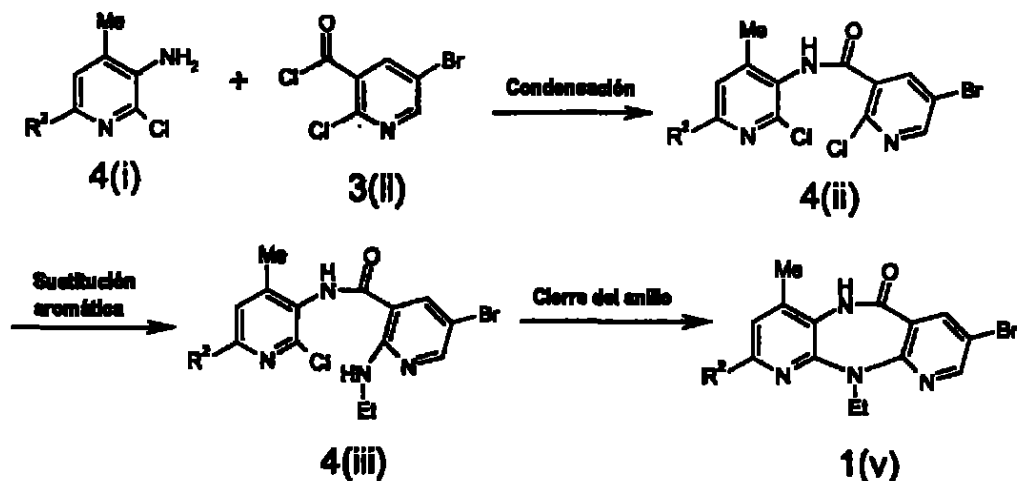
Esquema 3: Preparación de intermedios en los que R² es alquilo C₁₋₄



Brevemente, una reacción de condensación mediada por base entre 3(i) y 3(ii) produce el intermedio 3(iii). Una sustitución aromática (S_NAR) de 3(iii) con Et-NH₂ produce el intermedio 3(iv). El cierre del anillo 3(iv) se realiza a través de una reacción de S_NAR mediada por base, para formar un intermedio tricíclico, que se alquila para producir un compuesto intermedio 3(v).

10

Esquema 4: Vía alternativa para producir el compuesto en el que R⁴ es Me



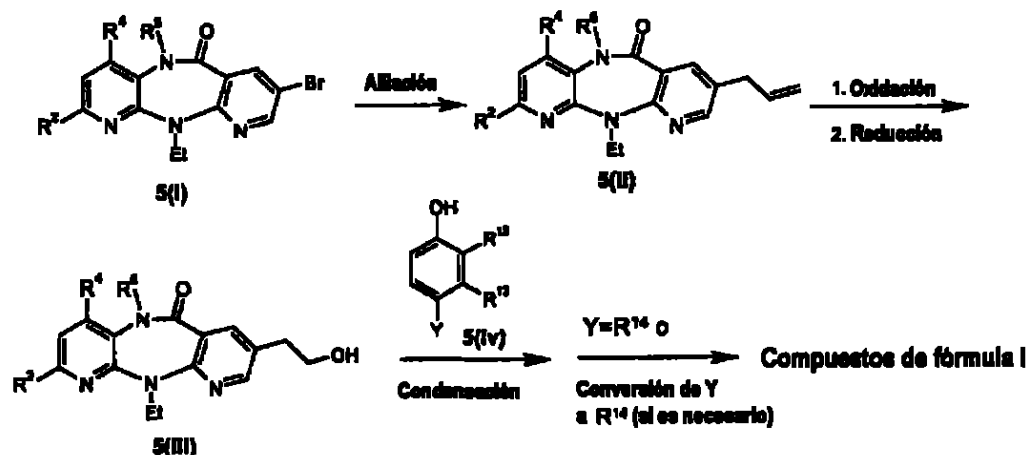
Brevemente, una condensación mediada por base entre 4(i) y 3(ii) produce el intermedio 4(ii). Una sustitución

196
102

aromática (S_NAR) de 4(ii) con Et-NH₂ produce el intermedio 4(iii). El cierre del anillo 4(iii) se realiza a través de una reacción de S_NAR mediada por base, para formar un compuesto intermedio tricíclico 1(v).

5

Esquema 5: Introducción de los derivados de ácido benzoico



Brevemente, un acoplamiento cruzado del derivado de bromo 5(i), sintetizado como se describe en la presente, con un reactivo de alilestaño en un disolvente aprótico (por ejemplo DMF) y en presencia de un catalizador, forma sustituyentes C-8 5(ii). La oxidación del doble enlace (por ejemplo, mediante ozonolisis para producir un ozónido), seguido de una reducción, produce el sustituyente hidroxietilo C-8 5(iii). Utilizando una reacción de tipo Mitsunobu, se condensan los derivados de naftilo 5(iv), 5(v) o 5(vi), en los que Y es R¹⁴ con la excepción de COOH, con 5(iii) para producir un compuesto de fórmula I. Como alternativa, cuando Y es un grupo precursor de R¹⁴, por ejemplo COOCH₃, puede utilizarse una reacción de tipo Mitsunobu para condensar 5(iv) o 5(v) con 5(iii), y después Y puede convertirse de forma química en sustituyentes R¹⁴, por ejemplo mediante saponificación de COOCH₃ para producir COOH, produciendo con ello un compuesto de fórmula I.

Como se ha indicado anteriormente, el compuesto que proporciona la invención inhibe la actividad enzimática de la RT de HIV-1. Basándose en los ensayos de estos compuestos, como se describe a continuación, se ha

25

descubierto que inhiben la actividad DNA-polimerasa dependiente de RNA de la RT de HIV-1. Se ha descubierto (los datos no aparecen) que también inhiben la actividad DNA-polimerasa dependiente de DNA de la RT de HIV-1. Utilizando el ensayo de transcriptasa inversa (RT) descrito a continuación, un compuesto puede ensayarse para determinar su capacidad para inhibir la actividad DNA-polimerasa dependiente de RNA de la RT de HIV-1. De esta manera se ensayó cierto compuesto específico descrito en los ejemplos que aparecen a continuación. Los resultados de los ensayos aparecen en la tabla 1 como IC₅₀ y EC₅₀.

EJEMPLOS

La presente invención se ilustra con más detalle mediante los siguientes ejemplos no limitantes. Todas las reacciones se realizan en una atmósfera de nitrógeno o argón, a menos que se indique lo contrario. Las temperaturas aparecen en grados Celsius. Los porcentajes o razones de disolución expresan una relación de volumen en volumen, a menos que se indique lo contrario.

Las abreviaturas o símbolos que se utilizan en la presente incluyen:

- DEAD: azodicarboxilato de dietilo
- DIAD: azodicarboxilato de diisopropilo
- DIEA: diisopropiletilamina
- DMAP: 4-(dimetilamino)piridina
- DMSO: dimetilsulfóxido
- DMP: dimetilformamida
- DCC: dicitclohexilcarbodiimida
- ES MS: espectrometría de masas de electronebulización
- Et: etilo
- EtOH: etanol
- EtOAc: acetato de etilo
- Et₂O: éter dietílico
- HPLC: cromatografía líquida de alta resolución
- iPr: isopropilo
- Me: metilo

102
104

MeOH: metanol

MeCN: acetonitrilo

NaHMDS: hexametildisilazida de sodio

NBS: N-bromosuccinimida

5 Ph: fenilo

TBE: tris-borato-EDTA

TBTU: tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-
N,N,N',N'-tetrametiluronio

TFA: ácido trifluoroacético

10 THF: tetrahidrofurano

PFU: unidades formadoras de placa

DEPC: pirocarbonato de dietilo

DTT: ditiotreitól

EDTA: tetraacetato de etilendiamina

15 UMP: uridina-5'-monofosfato

UTP: uridina-5'-trifosfato

MES: ácido 2-(n-morfolino)etansulfónico

SDS-PAGE: electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio-
poliacrilamida

20 MWCO: límite de exclusión según peso molecular

Bis-Tris propano: 1,3-bis(tris(hidroximetil)metilamino)-
propano

GSH: glutatión reducido

OBG: n-octil- β -D-glucósido

25

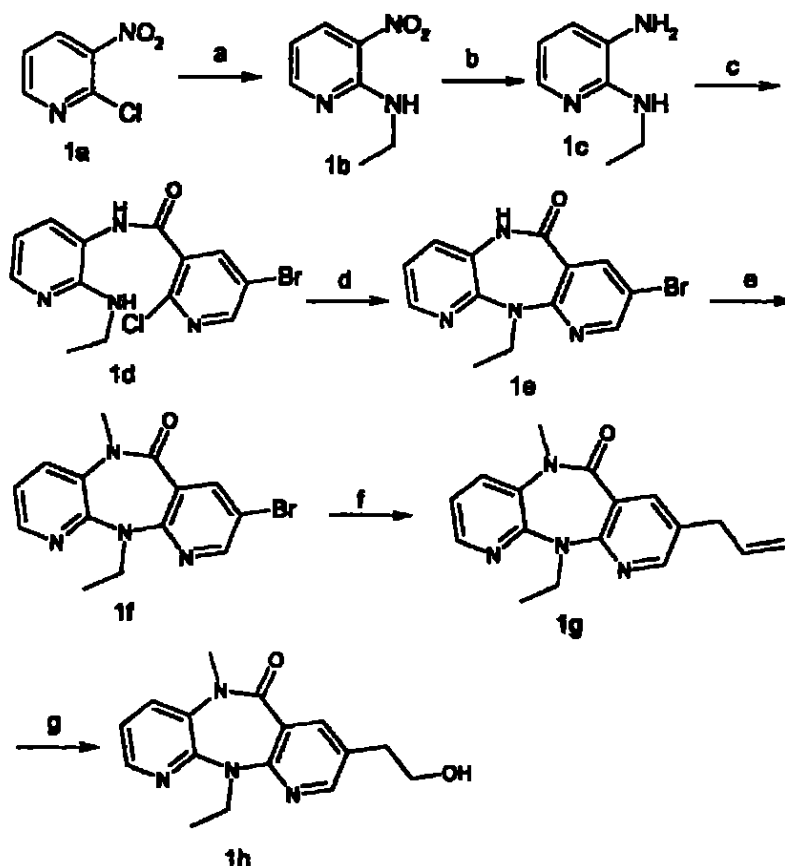
SÍNTESIS

Los siguientes ejemplos ilustran métodos para preparar
los compuestos de la invención.

30

EJEMPLO 1:

193
105



Etapas a:

A una disolución de 2-cloro-3-nitropiridina 1a (51 g, 325 mmol) en THF (650 ml) se le añadió una disolución 2 M de etilamina en THF (365 ml, 731 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua (aproximadamente 1,5 l) y el sólido resultante se filtró y se secó bajo presión reducida para producir el compuesto 1b (52 g).

10

Etapas b:

Una disolución de 2-(etilamino)-3-nitropiridina 1b (52 g) en MeOH (600 ml) se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atm.) en presencia de Pd(OH)₂ al 20% (10,4 g). El catalizador se eliminó mediante filtración a través de tierra de diatomeas.

15

106

El filtrado se concentró bajo presión reducida para producir el compuesto 1c como un sólido negro (39 g, rendimiento 88% en las etapas a y b).

5 **Etapas c:**

A una disolución enfriada de 3-amino-2-(etilamino)piridina 1c (30,6 g, 223 mmol) en MeCN (740 ml) se le añadió NaHCO₃ (56,3 g, 669 mmol). Después de 5 minutos se añadió cloruro de 5-bromo-2-cloro-3-piridincarbonilo
10 bruto (preparado a partir de ácido 5-bromo-2-hidroxi-3-piridincarboxílico y SOCl₂ (1 equiv., 223 mmol) [como se describe en T.W. Gero et al., en *Synth. Commun.*, 1989, 19, 553-559 (incorporado en la presente como referencia) pero omitiendo el tratamiento acuoso]. Después de 2 horas, la
15 mezcla de reacción se vertió sobre hielo/H₂O (1,5 l) y el sólido resultante se filtró, se enjuagó con H₂O y después con hexano. Después de secar bajo presión reducida durante la noche se obtuvo el compuesto 1d como un sólido negro (54,9 g, rendimiento 69%).

20

Etapas d:

A una disolución de 2-cloro-N-{2-(etilamino)-3-piridinil}-5-bromo-3-piridincarboxamida 1d (54,9 g, 154,4 mmol) en piridina (308 ml) a 50°C se añadió gota a gota a
25 una disolución 1 M de NaHMDS en THF (355 ml, 355 mmol). Después de 10 minutos, se dejó que la reacción se enfriase hasta la temperatura ambiente, y después se vertió sobre agua helada (2 l). El sólido resultante se filtró, se enjuagó con agua y después con hexano. El sólido se secó
30 bajo presión reducida para producir el compuesto 1e (36 g, rendimiento 75%) como un sólido verde oscuro.

Etapas e:

A una disolución de 8-bromo-5,11-dihidro-11-etil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 1e (36,7 g, 115 mmol) en DMF (380 ml) se le añadió NaH (3,5 g, 138 mmol), y la mezcla se calentó hasta 50°C durante 30 minutos. La
35 mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y

se trató con MeI (14,3 ml, 230 mmol). Después de 1,5 horas, la mezcla de reacción se vertió sobre agua helada. El sólido se filtró, se lavó con agua y después con hexano para producir, después de secar, el compuesto 1f (37,9 g, 5 rendimiento 99%) como un sólido gris oscuro.

Etapas f:

Se añadió aliltributylestano (30,7 ml, 99,0 mmol) y Pd(Ph₃P)₄ (5,20 g, 4,50 mmol) a una disolución desgasificada (N₂ a través de una disolución durante 30 minutos) de 8-bromo-5,11-dihidro-11-etil-5-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 1f (30,0 g, 90,0 mmol) en DMF (450 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 90°C durante 1,5 horas, después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc, desde 8:2 a 7:3) para producir el compuesto 1g (22,19 g, rendimiento 84%).

Etapas g:

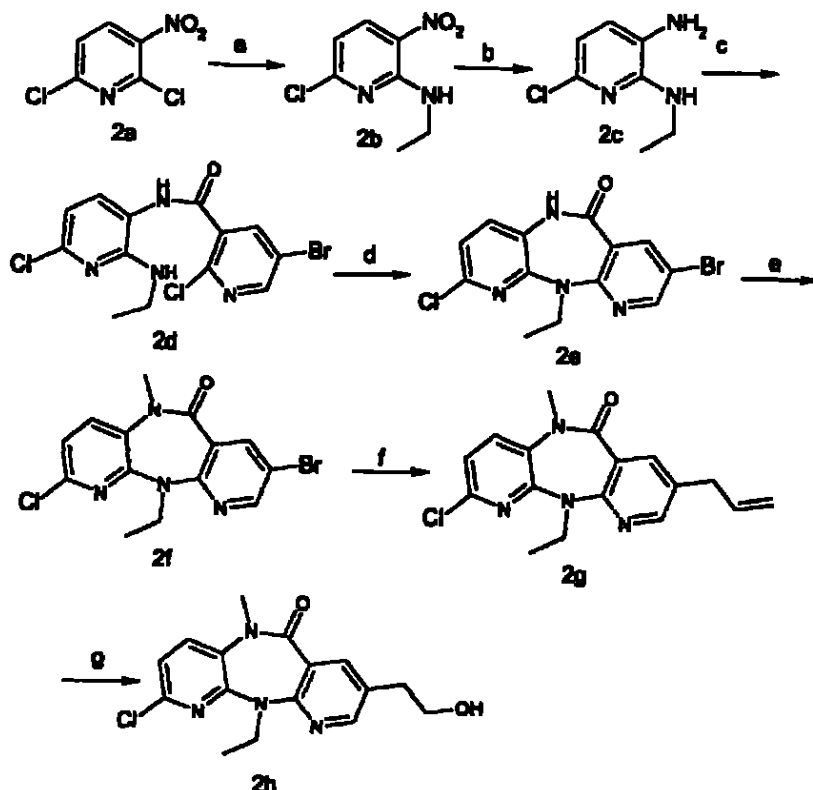
Una corriente de oxígeno ozonizado se burbujeó a través de una disolución fría (-78°C) de 5,11-dihidro-11-etil-5-metil-8-(2-propenil)-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepin-6-ona 1g (22,19 g, 75,4 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) y MeOH (150 ml) durante 2,5 horas. Una corriente de N₂ después se burbujeó a través de la disolución durante 15 minutos, y después se añadió a la disolución NaBH₄ sólido (4,99 g, 132 mmol). Se dejó que la mezcla de reacción se calentase hasta la temperatura ambiente. Después de 1 hora se añadió NH₄Cl acuoso saturado (200 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los disolventes orgánicos se eliminaron bajo presión reducida. Se añadió agua (300 ml) y CHCl₃ (300 ml) al residuo. Las fases se separaron y la capa acuosa se extrajo con CHCl₃ (3 x 300 ml). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (EtOAc:CHCl₃, 4:1) para producir el compuesto 1h (16,1 g, rendimiento 72%).

como un sólido blanco.

EJEMPLO 2:

~~106~~
108

107
109



Etapa a:

Una disolución enfriada en hielo de EtNH₂ (49,8 g, 1,10 ml) en tolueno (200 ml) se añadió durante 15 minutos a una disolución enfriada en hielo de 2,6-dicloro-3-nitropiridina 2a (100,0 g, 0,52 mol) en tolueno (225 ml). La mezcla se agitó a 0°C durante 45 minutos. Se añadió agua (500 ml) y EtOAc (500 ml), y las fases se separaron. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua (200 ml) y salmuera (200 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró bajo presión reducida. El sólido residual se recrystalizó en MeOH para producir el compuesto 2b (83,7 g, rendimiento 80%) como agujas amarillas.

Etapa b:

El compuesto 2c se preparó de una manera análoga al ejemplo 1, etapa b.

Etapa c:

Una disolución de cloruro de 5-bromo-2-cloro-3-piridincarbonilo (30,0 g, 97,0 mmol) en MeCN (100 ml) se añadió mediante una cánula a una disolución de 3-amino-6-cloro-2-(etilamino)piridina 2c (16,6 g, 97,0 mmol) en MeCN 5 (180 ml) que contiene NaHCO₃ sólido (14,2 g, 169 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió agua (200 ml) y la mezcla se agitó durante 10 minutos. La suspensión resultante se filtró. El sólido se lavó con agua, después con hexano y se 10 secó bajo presión reducida para producir el compuesto 2d (28,4 g, rendimiento 75%).

Etapas d:

Una disolución 1 M de NaHMDS en THF (167,5 ml, 167,5 15 mmol) se añadió lentamente a una disolución de 5-bromo-2-cloro-N-{2-(etilamino)-6-cloro-3-piridinil}-3-piridincarbonamida 2d (28,4 g, 72,8 mmol) en piridina (146 ml) calentada hasta 50°C. La mezcla de reacción se agitó a 50°C durante 1,5 horas. La mezcla entonces se vertió en una 20 mezcla de agua y hielo (1 l), y después de 1 hora la suspensión resultante se filtró. El sólido se lavó con agua y se secó bajo presión reducida para producir el compuesto 2e (23,4 g, rendimiento 91%).

25 **Etapas e:**

Se añadió NaH sólido (dispersión en aceite al 60%, 3,46 g, 86,1 mmol) durante 30 minutos a una disolución de 8-bromo-2-cloro-5,11-dihidro-11-etil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 2e (23,4 g, 66,3 mmol) en DMF (220 ml) 30 a 50°C. La mezcla se agitó a 50°C durante 1 hora, y después se dejó que se enfriase hasta la temperatura ambiente. La mezcla se vertió en agua (1 l) y la suspensión resultante se filtró. El sólido se lavó sucesivamente con agua y hexano, y después se secó bajo presión reducida para producir el 35 compuesto 2f (23,0 g, rendimiento 94%).

Etapas f:

Se añadió aliltributylestano (21,3 ml, 68,7 mmol) en

109
111

Pd(Ph₃P)₄ (3,61 g, 3,12 mmol) a una disolución desgasificada (N₂ a través de una disolución durante 30 minutos) de 8-bromo-2-cloro-5,11-dihidro-11-etil-5-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 2f (23,0 g, 62,5 mmol) en DMF
5 (312 ml). La mezcla se calentó hasta 90°C durante 2 horas. La mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc 7:3) para producir el compuesto 2g (13,4 g, rendimiento 65%).

10

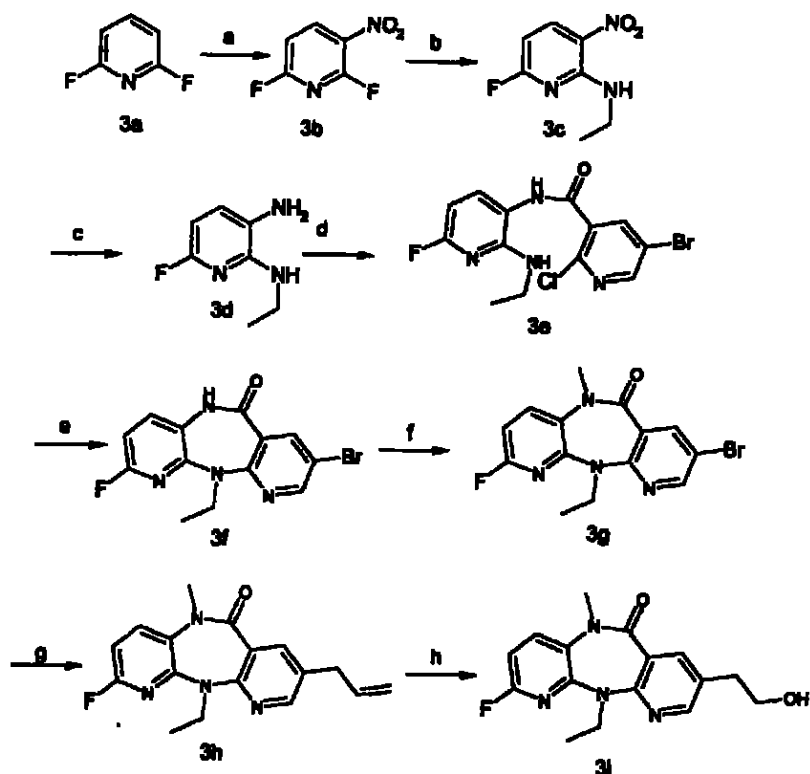
Etapas g:

Se introdujo oxígeno ozonizado en una disolución fría (-78°C) de 2-cloro-5,11-dihidro-11-etil-5-metil-8-(2-propenil)-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 2g (13,4
15 g, 40,7 mmol) en MeOH (102 ml) y CH₂Cl₂ (102 ml) hasta la desaparición completa del alqueno. Se burbujeó nitrógeno a través de la disolución para eliminar el exceso de O₃. Después se añadió NaBH₄ sólido (2,69 g, 71,1 mmol) en pequeñas porciones y se dejó que la mezcla se calentase
20 lentamente hasta la temperatura ambiente. Después de una hora se añadió NH₄Cl acuoso saturado (150 ml) y la mezcla se agitó durante 20 minutos. Los disolventes orgánicos se eliminaron bajo presión reducida. Se añadió agua (100 ml) a la disolución acuosa. La disolución se extrajo con CHCl₃ (3
25 x 200 ml). La capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (EtOAc:CHCl₃ 4:1) para producir el compuesto 2h (10,4 g, rendimiento 77%).

30

EJEMPLO 3:

112



Etapas a:

A una mezcla de ácido sulfúrico concentrado (600 ml) y ácido nítrico humeante (al 90%, 400 ml) en un baño de hielo
 5 (la temperatura interna se mantiene a 5-10°C) se le añadió gota a gota 2,6-difluoropiridina 3a (200 g, 1,74 mol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se vertió lentamente sobre 3 kg de hielo y se extrajo con Et₂O (2 x 2 l). Las capas orgánicas
 10 reunidas se lavaron con NaOH 1,5 N acuoso (2 x 1 l), después con NaHCO₃ acuoso saturado (400 ml) o hasta que el pH sea aproximadamente 8-9. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida hasta alcanzar un peso constante (para eliminar la 2,6-
 15 difluoropiridina sin reaccionar: 10-12%). El compuesto 3b se obtuvo como un líquido amarillo (207,3 g, rendimiento 74%).

Etapas b:

A una disolución de 2,6-difluoro-3-nitropiridina 3b

113

(45,7 g, 285 mmol) en THF (500 ml) a -40°C se le añadió gota a gota una disolución de etilamina (25,7 g, 570 mmol) en THF (250 ml). Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo se disolvió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El sólido amarillo resultante se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (EtOAc al 15% en hexano) para producir el compuesto 3c (43,2 g, rendimiento 82%) como un sólido amarillo.

10

Etapas c:

Una disolución de 2-etilamino-6-fluoro-3-nitropiridina 3c (43,2 g, 230 mmol) en THF (1 l) se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atm.) en presencia de Pd(OH)₂ al 20%/C (4,35 g). El catalizador se eliminó mediante filtración a través de tierra de diatomeas. El filtrado se concentró bajo presión reducida para producir el compuesto 3d (36,3 g, rendimiento 95%) como un sólido negro.

20

Etapas d:

A una disolución enfriada (4°C) de 3-amino-2-etilamino-6-fluoropiridina 3d (31,0 g, 200 mmol) en MeCN (160 ml) se añadió NaHCO₃ sólido (50,4 g, 600 mmol). Después de 15 minutos, se añadió una disolución de cloruro de 5-bromo-2-cloro-3-piridincarbonilo (1 equiv., 200 mmol) en MeCN (155 ml). Después de 60 minutos a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió sobre agua (1,2 l) y se agitó durante 30 minutos. El sólido resultante se filtró, se secó bajo presión reducida a 50°C durante la noche. El compuesto 3e (73,7 g, rendimiento 99%) se obtuvo como un sólido negro.

30

Etapas e:

A una disolución de 2-cloro-N-(2-(etilamino)-6-cloro-3-piridinil)-5-bromo-3-piridincarboxamida 3e (73,5 g, 216 mmol) en piridina (435 ml) a 50°C se le añadió gota a gota una disolución 1 M de NaHMDS en THF (520 ml, 520 mmol).

35

Después de 10 minutos se dejó que la reacción se enfriase hasta la temperatura ambiente, después se vertió sobre agua helada (2 l). El sólido resultante se filtró, se enjuagó con agua y después hexano. El sólido se secó bajo presión reducida para producir el compuesto 3f (50,6 g, rendimiento 69%) como un sólido verde oscuro.

Etapas f:

A una disolución de 8-bromo-5,11-dihidro-11-etil-2-fluoro-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 3f (44 g, 130,5 mmol) en DMF (520 ml) se le añadió NaH (4,28 g, 178 mmol), y la mezcla se calentó hasta 50°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se trató con MeI (24,4 ml, 522 mmol). Después de 1,5 h, la mezcla de reacción se vertió sobre agua helada. El sólido se filtró, se lavó con agua y después con hexano, se secó bajo presión reducida para producir el compuesto 3g (43,2 g, rendimiento 94%) como un sólido gris oscuro.

Etapas g:

Se añadió aliltributilestano (32,0 ml, 103,4 mmol) y Pd(Ph₃P)₄ (5,43 g, 4,70 mmol) a una disolución desgasificada (N₂ a través de la disolución durante 45 minutos) de 8-bromo-5,11-dihidro-11-etil-2-fluoro-5-metil-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 3g (33,0 g, 94,0 mmol) en DMF (470 ml). Se añadió más cantidad de Pd(Ph₃P)₄ (1,09 g, 0,94 mmol) después de 1, 2, 3, 4, y 5 horas para completar la reacción. La mezcla se calentó hasta 90°C durante 6 horas. La mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc, desde 8:2 a 7:3) para producir el compuesto 3h (22,4 g, rendimiento 76%).

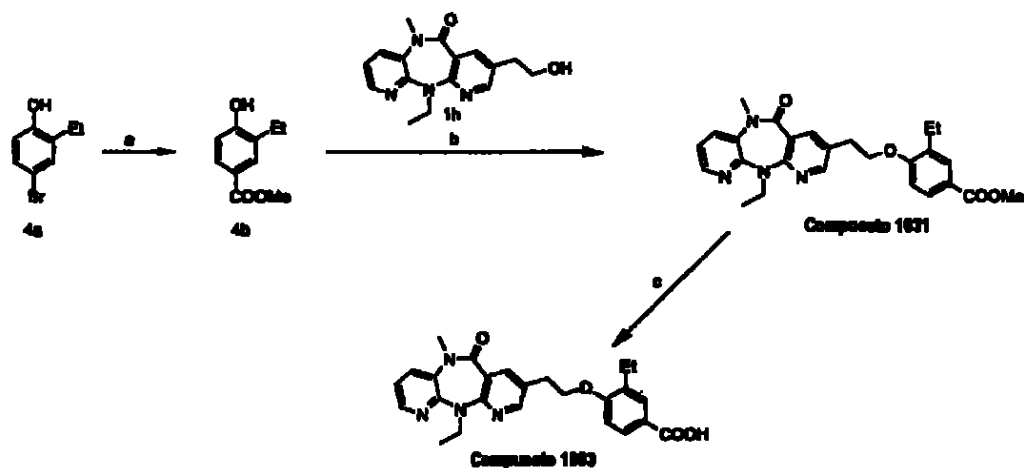
Etapas h:

Una corriente de oxígeno ozonizado se burbujeó a través de una disolución fría (-78°C) de 5,11-dihidro-11-etil-2-fluoro-5-metil-8-(2-propenil)-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona 3h (22,38 g, 71,6 mmol) en

113
115

CH₂Cl₂ (100 ml) y MeOH (100 ml) durante 3 horas. Una corriente de N₂ se burbujeó después a través de la disolución durante 15 minutos y después se añadió NaBH₄ sólido (5,05 g, 133 mmol) a la disolución. La mezcla de reacción se dejó que se calentase hasta la temperatura ambiente. Después de 1 hora se añadió otra porción de NaBH₄ (1,62 g, 43,0 mmol) a la mezcla de reacción. Después de otra hora se añadió NH₄Cl acuoso saturado (150 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Los disolventes orgánicos se eliminaron bajo presión reducida. Se añadió agua (200 ml) y la mezcla se extrajo con CHCl₃ (3 x 300 ml). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (EtOAc:CHCl₃ 4:1) para producir el compuesto 31 (19,7 g, rendimiento 72%) como un sólido blanco.

EJEMPLO 4 (ENTRADAS 1003 Y 1031)



Etapas a:

Una disolución de *n*-BuLi 1,6 M en hexano (6,22 ml, 9,95 mmol) se añadió rápidamente a una disolución fría (-78°C) de 4a (0,87 g, 4,33 mmol) en THF (20 ml). La mezcla se agitó a -78°C durante 10 minutos, se dejó que se calentase hasta 0°C y se mantuvo a 0°C durante 1 hora. Una corriente de CO₂ se introdujo en la mezcla de reacción durante 10 minutos y la disolución se hizo ácida mediante la adición de una disolución de HCl 1,0 N acuoso. La mezcla se extrajo con

Handwritten signature
116

EtOAc. La capa orgánica se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se suspendió en Et_2O (20 ml) y se trató con una disolución de CH_2N_2 en exceso en Et_2O (aproximadamente 0,6 M, 10 ml) durante 10 minutos.
5 La mezcla se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc, desde 4:1 a 7:3) para producir 4b (0,13 g, rendimiento 17%).

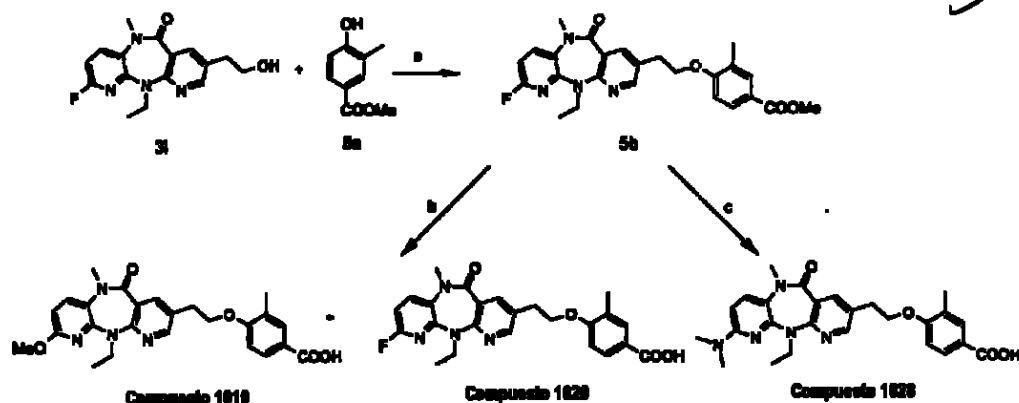
10 **Etapas b:**

Una disolución de DIAD (86 μl , 0,44 mmol) en THF (2,0 ml) se añadió durante 30 minutos a una disolución de 1h (100 mg, 0,33 mmol), 4b (60,0 mg, 0,33 mmol) y PPh_3 (114 mg, 0,44 mmol) en THF (10 ml) a 25°C. La mezcla se agitó durante 1 h
15 y después se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc, desde 7:1 a 1:1) para producir el compuesto 1031 (128 mg, rendimiento 83%).

20 **Etapas c:**

Una disolución de LiOH 1,0 N acuoso (1,52 ml, 1,52 mmol) se añadió a una disolución del compuesto 1031 (100 mg, 0,22 mmol) en THF (6 ml) y MeOH (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 24 horas, y después se
25 calentó a reflujo durante 1 hora. La disolución se hizo ácida mediante la adición de una disolución de HCl 1,0 N y después se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua (2 x) y salmuera, se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con
30 Et_2O /hexano para producir el compuesto 1003 (80 mg, rendimiento 83%) como un sólido blanco. Una mezcla del compuesto 1003 (38,0 mg, 0,085 mmol) y una disolución de NaOH 0,02 N acuoso (4,3 ml, 0,065 mmol) en MeCN (3 ml) se sonicó. La disolución resultante se congeló y se liofilizó
35 para producir la correspondiente sal sódica (37 mg, rendimiento 98%) como un sólido blanco.

EJEMPLO 5 (ENTRADAS 1019, 1020 Y 1028)



Etapas a:

Una disolución de DIAD (86 μ l, 0,44 mmol) en THF (2,0 ml) se añadió durante 2 horas a una disolución de 31 (106 mg, 0,34 mmol), 5a (56,0 mg, 0,34 mmol) y PPh_3 (114 mg, 0,44 mmol) en THF (7 ml) a 25°C. La mezcla se agitó durante 1 hora y después se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc, desde 7:3 a 1:1) para producir 5b (115 mg, rendimiento 73%) como un sólido blanco.

Etapas b:

Una disolución de LiOH 1,0 N acuoso (1,0 ml, 1,0 mmol) se añadió a una disolución de 5b (100 mg, 0,21 mmol) en MeOH (6 ml). La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 24 horas. La disolución se hizo ácida mediante la adición de una disolución de HCl 1,0 N y después se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc:AcOH 50:50:1) para producir primero el compuesto 1019 (25 mg, rendimiento 25%) como un sólido blanco, seguido del compuesto 1020 (48 mg, rendimiento 50%) como un sólido blanco. Las correspondientes sales sódicas se obtuvieron mediante un tratamiento con NaOH 0,02 N acuoso.

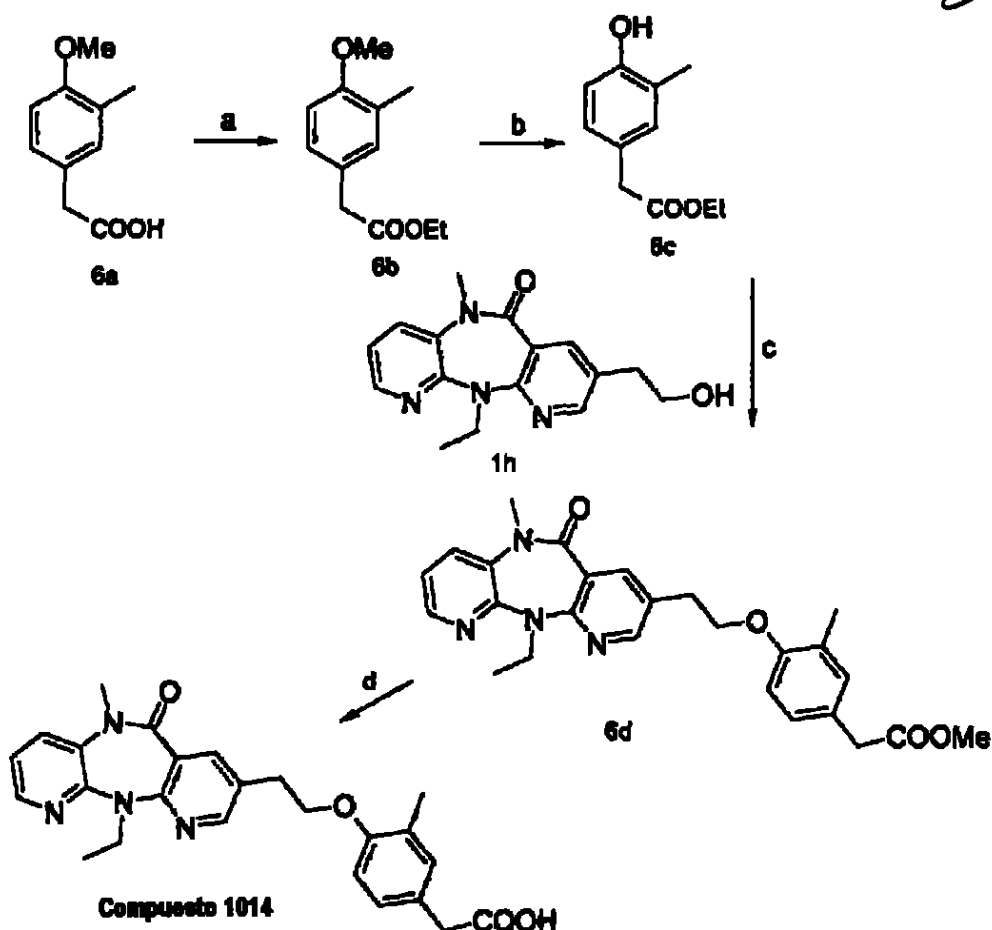
Etapas c:

Una disolución de dimetilamina 1,0 M en THF (5,0 ml, 5,0 mmol) y una disolución de LiOH 1,0 N acuoso (1,0 ml, 1,0

mmol) se añadieron a una disolución de 5b (50,0 mg, 0,11 mmol) en *i*-PrOH (3 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 48 horas. Se añadió una disolución de HCl 1,0 N acuoso (2 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc. La
5 capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc:AcOH 50:50:1) para producir el compuesto 1028 (18 mg, rendimiento 35%) como un sólido blanco. La
10 correspondiente sal sódica se obtuvo mediante un tratamiento con NaOH 0,02 N acuoso.

EJEMPLO 6 (ENTRADA 1014)

~~119~~
119



Etapas a:

A una disolución del ácido 6a (1,00 g, 5,55 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (0,73 ml, 8,3 mmol) y DMF (100 μl). La reacción se agitó durante 90 minutos, después se añadió EtOH (15 ml), y la reacción se agitó durante otra hora más. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, el residuo se diluyó con EtOAc, y se lavó sucesivamente con agua, salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró para producir el éster 6b, que se utilizó sin mayor purificación.

Etapas b:

A una disolución del éster 6b en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadió una disolución 1 M de BBr₃ en CH_2Cl_2 (7,2 ml, 7,20

mmol). Después de 3 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C y se añadió EtOH (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y después se concentró bajo presión reducida. El
5 residuo se diluyó con EtOAc y se lavó sucesivamente con una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada, agua y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró hasta la sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc 70:30) para producir el fenol 6c (802
10 mg, rendimiento 74 en 2 etapas) como una goma transparente.

Etapas c:

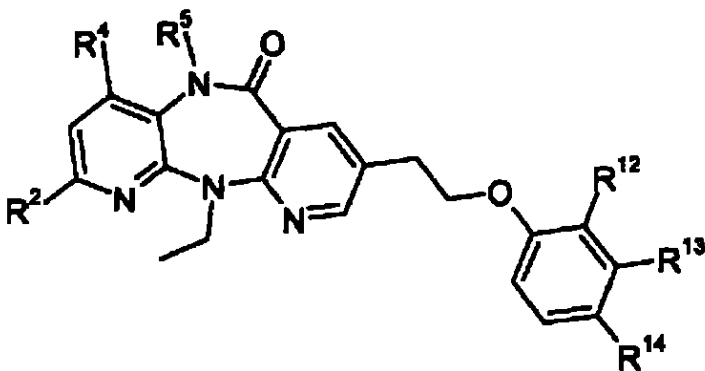
Una disolución de DIAD (87 µl, 0,44 mmol) en THF (2,0 ml) se añadió durante 2 horas a una disolución de 1h (100
15 mg, 0,33 mmol), Ph₃P (104 mg, 0,44 mmol) y fenol 6c (65 mg, 0,34 mmol) en THF (7,0 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 4 horas, y después se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución rápida (hexano:EtOAc, desde
20 30:70 a 50:50) para producir el compuesto 6d (46 mg, rendimiento 29%) como una espuma blanca.

Etapas d:

A una disolución del éster 6d (44 mg, 0,09 mmol) en
25 una mezcla de THF (3 ml) y MeOH (1 ml) se añadió una disolución de LiOH 1 N acuoso (1,0 ml, 1,0 mmol). Después de 4 horas a temperatura ambiente se añadió HCl 1 N (2 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró
30 hasta la sequedad para producir el compuesto 1014 (39 mg, rendimiento 93%) como un sólido blanco. La correspondiente sal sódica se obtuvo mediante un tratamiento con 1 equivalente de hidróxido de sodio acuoso, y la disolución resultante se liofilizó para producir un sólido blanco
35 velloso.

TABLA 1

121



Comp. n° de entr.	R ²	R ⁴	R ⁵	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴	MS (ESI) m/z (MH) ⁺
1001	H	H	Me	Me	Me	COOH	447
1002	H	H	Me	Me	H	COOH	433
1003	H	H	Me	Et	H	COOH	447
1004	H	H	Me	Me	OH	COOH	449
1005	H	H	Me	Br	H	COOH	497/499
1006	H	H	Me	Me	H	CHMeCOOH	461
1007	Cl	H	Me	Me	H	CH ₂ CH ₂ COOH	495/497
1008	H	H	Me	Me	H	CH ₂ CH ₂ COOH	461
1009	Cl	H	Me	Me	H	CH=CHCOOH	493/495
1010	H	H	Me	Me	H	CH=CHCOOH	459
1011	H	H	Me	Cl	H	CH ₂ COOH	467/469
1012	H	H	Me	Br	H	CH ₂ COOH	511/513
1013	H	H	Me	Me	Me	CH ₂ COOH	461
1014	H	H	Me	Me	H	CH ₂ COOH	447
1015	Cl	H	Me	Me	H	COOH	467/469
1016	Cl	Me	H	Me	H	COOH	467/469

122

1017	Me	H	Me	Me	H	COOH	447
1018	H	Me	H	Me	H	COOH	433
1019	OMe	H	Me	Me	H	COOH	463
1020	F	H	Me	Me	H	COOH	451
1021	OEt	H	Me	Me	H	COOH	477
1022	H	H	Me	NO ₂	H	COOH	464
1023	H	H	Me	Cl	H	COOH	453/455
1024	H	H	Me	H	NH ₂	COOH	434
1025	H	H	Me	H	F	COOH	437
1026	H	H	Me	H	Cl	COOH	453/455
1027	H	H	Me	CF ₃	H	COOH	487
1028	N(Me) ₂	H	Me	Me	H	COOH	476
1029	H	H	H	Me	H	COOH	419
1030	H	H	Me	Me	H	COOMe	447
1031	H	H	Me	Et	H	COOMe	461
1032	H	H	Me	Cl	H	COOMe	467/469
1033	H	H	Me	CF ₃	H	COOMe	501
1034	OEt	H	Me	Me	H	COOMe	491
1035	H	H	Me	H	F	COOMe	451

ENSAYOS DE TRANSCRIPTASA INVERSA (RT)

Teoría del ensayo:

Entre las enzimas que codifica el virus de la
5 inmunodeficiencia humana (HIV-1) se encuentra una
transcriptasa inversa (1), que se denomina de esta manera
porque transcribe una copia de DNA a partir de un molde de
RNA. Esta actividad puede medirse de forma cuantitativa en
un ensayo de enzimas exento de células, y está basado en la
10 observación de que la transcriptasa inversa es capaz de

utilizar un molde sintético poli r(C) cebado con un oligo biotinilado d(G) para transcribir una hebra de DNA marcada de forma radiactiva, utilizando 3H-dGTP como sustrato. El ensayo descrito a continuación utiliza la enzima de tipo salvaje (que es la forma predominante de la enzima observada en pacientes infectados con HIV-1), y también puede utilizarse con enzimas RT mutantes (por ejemplo, Y181C, preparada mediante mutagénesis dirigida a sitio en la que el resto tirosina en el codón 181 se sustituye por un resto cisteína) en condiciones de ensayo análogas. Este ensayo permite evaluar el compuesto para determinar su eficacia para inhibir las enzimas mutantes.

Materiales:

15 a) Preparación de la enzima

Algunos mutantes HIV-1 III B clon BH10 RT fueron suministrados por el doctor C.-K. Shih (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc., EEUU) en el vector pKK233-2 (Pharmacia). Brevemente, un HIV RT clon pKRT2 que contiene sólo el gen RT p66 regulado por el operón lac/promotor trc se obtuvo del doctor W. Summers (Yale University) (2). Se introdujo una diversidad de sustituciones de aminoácidos específicos en el gen RT de tipo salvaje mediante mutagénesis dirigida a sitio. Los clones RT se subclonaron en el vector de expresión bacteriano pKK233-2. Los clones que se suministran incluyen el tipo salvaje, Val106Ala, Tyr181Cys, Tyr188Cys, Tyr188Leu, Gly190Ala y Pro236Leu. Otros se prepararon in situ mediante mutagénesis dirigida a sitio de clones pKK233-2 RT que incluyen Lys103Asn, Lys103Asn/Tyr181Cys, Lys103Asn/Leu100Ile, Lys103Asn/Pro225His y Lys103Asn/Val108Ile.

b) Purificación de la enzima

La purificación de la transcriptasa inversa recombinante se realizó utilizando una combinación de métodos descritos previamente (3). Se utilizó una única colonia de placa fresca de células JM109 transformadas para iniciar el crecimiento de un precultivo cultivado o/n a 37°C. Se inocularon dos litros de medio de crecimiento con

122
124

este precultivo. A una OD₆₀₀ de aproximadamente 1,5 (5-6 h a 37°C). La expresión del gen RT se indujo con IPTG (1 mM final), y la fermentación se continuó durante unas pocas horas más a 37°C. Después de la centrifugación, los
5 sobrenadantes se desecharon y los sedimentos celulares se reunieron y se almacenaron a -80°C hasta la purificación. Las células se descongelaron a 4°C durante la noche y se suspendieron en tampón de lisis (MES 50 mM, pH 6, EDTA 1 mM, glicerol al 10% v/v, OBG al 0,02% p/v, azida de sodio al
10 0,02% p/v). Se añadió lisozima y la mezcla se incubó sobre hielo durante 40 minutos. Después de la homogeneización utilizando un aparato Dounce en presencia de lisozima y sonicación, las células se centrifugaron durante 30 minutos. El sobrenadante (S1) se guardó y se almacenó a 4°C. El
15 sedimento centrifugado se resuspendió en tampón de extracción (MES 50 mM, pH 6, KPO₄ 50 mM, pH 6, KCl 100 mM, glicerol al 10% v/v, OBG al 0,02% p/v, azida de sodio al 0,02% p/v) y se agitó durante 30 minutos a 4°C. Esta segunda mezcla se centrifugó de nuevo y se guardó el sobrenadante
20 (S2). El procedimiento anterior se repitió 2 veces más, se guardaron los sobrenadantes S3 y S4, y se realizó una última extracción durante la noche (S5). Se añadió Polymin P (al 0,005% final) a los sobrenadantes reunidos para eliminar los ácidos nucleicos. Esta disolución se agitó durante 75
25 minutos a 4°C y se centrifugó durante 1 hora. El sobrenadante (SS1) se precipitó sobre hielo con sulfato de amonio al 20% p/v y se agitó durante 1 hora a 4°C. La mezcla entonces se centrifugó y el sobrenadante resultante (SS2) se precipitó con más sulfato de amonio al 40% p/v (al 60%
30 total), se agitó durante 1 hora y se volvió a centrifugar. El sedimento final (P1) se almacenó durante la noche a 4°C antes de someterse a la purificación al día siguiente. Todas las etapas de la purificación se realizaron a 4°C a menos que se indique lo contrario. El sedimento (P1) se
35 resuspendió en MES 50 mM, pH 6, KPO₄ 10 mM, pH 6, KCl 100 mM, glicerol al 10% v/v, OBG al 0,02% p/v, azida de sodio al 0,02% p/v. La suspensión se volvió a dializar contra el mismo tampón durante la noche utilizando tubos de diálisis

123
125

MWCO de 12-14 kD. El dializado se centrifugó y el sobrenadante se filtró a través de unidades de filtro Millex-PF de 0,8 μ m. La muestra filtrada se cargó sobre una columna de hidroxiapatito (volumen de lecho 30 ml) y se lavó con el mismo tampón. La enzima unida se eluyó con aproximadamente 220 ml de un gradiente lineal de KPO₄ 10 a 300 mM en el anterior tampón. Las fracciones que contienen el heterodímero p66/p51 (según se determina mediante SDS-PAGE al 8% y transferencia Western) se reunieron para la siguiente columna. Las fracciones que contienen RT se diluyeron dos veces con Bis-Tris propano 50 mM, pH 7,0, OBG al 0,02% p/v, glicerol al 10% v/v, azida de sodio al 0,02% p/v, y se cargaron en una columna Hi-Trap Heparin Sepharose (volumen de lecho 5 ml) y se lavaron con el mismo tampón. La RT unida después se eluyó con 75 ml de un gradiente lineal de sulfato de amonio desde 0 a 1 M en el mismo tampón. Las fracciones que contienen RT se reunieron según los resultados de los análisis SDS-PAGE y transferencia Western. La concentración de proteínas en esta reunión se determinó mediante el método de Bradford utilizando BSA como patrón. La preparación de enzimas final se dializó en MES 50 mM, pH 6, KPO₄ 300 mM, pH 6, KCl 175 mM, glicerol al 10% v/v, azida de sodio al 0,02% p/v, se separó en partes alícuotas y se congeló a -80°C.

25

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO:

El ensayo de enzimas radiométrico se ha adaptado a un formato de placa de microvaloración de 96 pocillos y utiliza esferas de proximidad de centelleo de estreptavidina. El ensayo se describe brevemente a continuación. La enzima RT de HIV-1 se descongeló y se diluyó de forma apropiada en Tris/HCl 50 mM, pH 7,8, que contiene NaCl 60 mM, MgCl₂ hexahidratado 2 mM, DTT 6 mM, GSH 2 mM y Chaps al 0,02% p/v para producir enzima aproximadamente 3 nM. A 30 μ l de esta disolución enzimática se le añadieron 10 μ l de disolución de inhibidor (inhibidor desde 50 μ M a 2,5 nM en el mismo tampón de ensayo que antes, que contiene DMSO al 15% v/v). La placa

124
126

se preincubó durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de realizar la siguiente etapa. En esta etapa de preincubación, la mayor y menor concentración de inhibidor es 12,5 μ M y 0,62 nM, respectivamente, y la concentración de DMSO es de 3,75% v/v. Después la reacción enzimática se inició mediante la adición de 10 μ l a la disolución de sustrato. La mezcla de reacción final contiene Tris/HCl 50 mM, pH 7,8, NaCl 60 mM, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 2 mM, DTT 6 mM, GSH 2 mM, Chaps al 0,02% p/v, DMSO al 3% v/v, poli rC 179 nM, biotina dG₁₅ 18 nM, dGTP 288 nM, ³H-dGTP 71 nM y enzima 1-2 nM.

En esta etapa de incubación, la mayor y menor concentración de inhibidor es 10 μ M y 0,5 nM, respectivamente. Después de la adición de los sustratos, la placa se cubrió con un sello de plástico y se incubó durante 1 hora a 37°C en un incubador seco. Después la reacción se extinguió mediante la adición de 75 μ l de EDTA 0,5 M que contenía 5 mg/ml de esferas de proximidad de centello de estreptavidina.

La placa se agitó durante 2 minutos a velocidad media y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después se añadieron 75 μ l de una disolución de cloruro de cesio 7 M, la placa se agitó durante 2 minutos a velocidad media y se incubó de nuevo durante 1 hora a temperatura ambiente. La placa después se cubrió con un sello de plástico y se contó utilizando un contador de luminiscencia y centelleo de microplacas TopCount-NXT™ (Packard). Cada pocillo se contó durante 60 segundos. Cada fila contenía en sus extremos un blanco y un pocillo control.

El cálculo del porcentaje de inhibición es el siguiente:

$$\% \text{ Inhibición} = \left(1 - \left[\frac{\text{cpm} \cdot \text{pocillo} - \text{cpm} \cdot \text{blanco}}{\text{cpm} \cdot \text{control} - \text{cpm} \cdot \text{blanco}} \right] \right) * 100$$

Utilizando el anterior ensayo se ensayó un compuesto de la invención para determinar la inhibición de enzimas RT de tipo salvaje (TS) y mutantes. Los resultados aparecen en

125
127

la tabla 4 como IC₅₀ (nM).

Para confirmar la capacidad del compuesto para inhibir la replicación de HIV también se ensayó en el ensayo de cultivo de células T humanas (sincitios) descrito a
5 continuación.

Ensayo ELISA para evaluar la actividad en un cultivo celular

El compuesto de la invención se ensayó para determinar su capacidad para inhibir la replicación de HIV en un
10 cultivo celular en un ensayo con placa de 96 pocillos. Se utilizó RPMI 1640 completo, que consiste en RPMI 1640 + suero bovino fetal al 10%, gentamicina 10 µg/ml y β-mercaptoetanol 10 µM, para la dilución del compuesto, así como para medio de crecimiento celular. La línea celular de
15 linfocitos T C8166 se infectó con una multiplicidad de infección de 0,001 con virus que codifican la transcriptasa inversa de tipo salvaje y mutante. Las células entonces se incuban durante tres días en presencia de diluciones en serie del compuesto de la invención. Se reunió el
20 sobrenadante de ocho pocillos iguales, y se determinó la concentración de p24 extracelular utilizando un kit de ensayo de antígenos p24 de HIV-1 disponible en el mercado (Beckman-Coulter[®]). El nivel de inhibición (porcentaje de inhibición) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \left(1 - \left[\frac{p24 \text{ pg/mL} \cdot \text{inhibidor}}{p24 \text{ pg/mL} \cdot \text{control}} \right] \right) * 100$$

25 Los resultados aparecen en la tabla 2 como EC₅₀ (nM).

BIBLIOGRAFÍA (INCORPORADA EN LA PRESENTE COMO REFERENCIA)

1. Benn, S. et al., Science, 230:949, 1985.
2. D'Aquila, R.T. y Summers, W.C., J. Acq. Imm. Def.
30 Syn., 2:579, 1989.
3. a) Warren, T.C. et al., Protein Expression & Purification, 3:479, 1992; b) Kohlstaedt, L.A., Science, 256(5065): 1783, 1992.

126
128

TABLA 2
Inhibición de cepas de tipo salvaje y mutante de RT para el
compuesto de fórmula I

n° de entr.	IC ₅₀ (TS) (nM)	IC ₅₀ (K103N/Y181C) (nM)	EC ₅₀ (TS) (nM)	EC ₅₀ (K103N/Y181C) (nM)
1001	C	A	C	C
1002	C	A	C	C
1003	C	A	C	C
1004	C	A	C	A
1005	C	A	C	C
1006	C	A	NE	NE
1007	C	B	C	B
1008	C	A	C	A
1009	C	C	C	C
1010	C	C	C	C
1011	C	A	NE	NE
1012	C	A	NE	NE
1013	C	A	NE	NE
1014	C	A	C	A
1015	C	B	C	C
1016	C	A	NE	NE
1017	C	A	C	C
1018	C	A	C	C
1019	C	A	C	C
1020	C	A	C	C
1021	C	A	NE	NE

122
129

1022	B	A	B	A
1023	B	A	C	A
1024	C	A	NE	NE
1025	B	NE	NE	NE
1026	B	NE	NE	NE
1027	B	A	NE	NE
1028	C	A	NE	NE
1029	C	A	C	NE
1030	C	C	C	C
1031	C	C	NE	NE
1032	C	C	NE	NE
1033	C	A	NE	NE
1034	C	B	NE	NE
1035	C	A	NE	NE

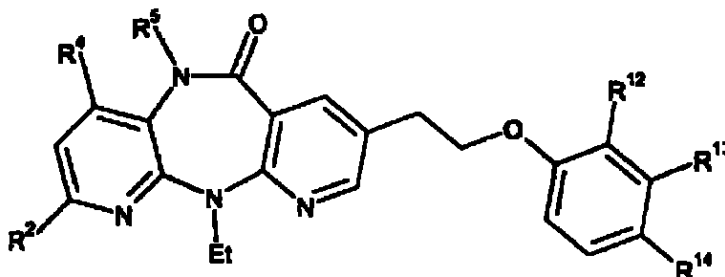
Leyendas de la tabla:

IC₅₀ y EC₅₀: A = >100 nM; B = 100 nM - 50 nM; C = <50 nM y NE = no ensayado.

128
130

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula I:



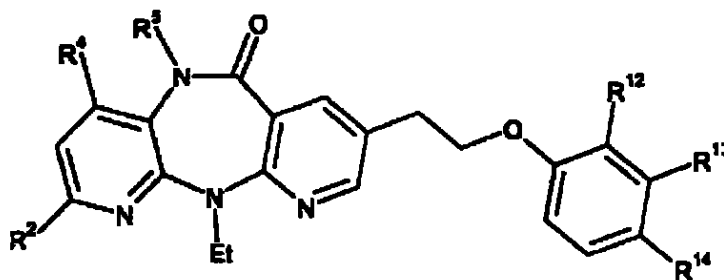
I

en la que

- 5 R^2 es H, halógeno, alquilo(C_{1-4}), O(alquilo(C_{1-4})),
NH(alquilo(C_{1-4})) o N(alquilo(C_{1-4}))₂;
 R^4 es H o CH_3 ;
 R^5 es H o CH_3 , con la condición de R^4 y R^5 no son ambos
iguales;
- 10 R^{12} es H, halógeno, alquilo(C_{1-4}), CF_3 o NO_2 ;
 R^{13} es H, alquilo(C_{1-4}), halógeno, OH o NH_2 , con la
condición de que R^{12} y R^{13} no son ambos H; y
 R^{14} es $COOR^{14a}$, en el que R^{14a} es H o alquilo(C_{1-6}); o R^{14}
es (alquenil(C_{2-4})) $COOR^{14a}$, en el que R^{14a} es como se define en
15 la presente; o R^{14} es (alquil(C_{1-4})) $COOR^{14a}$, en el que R^{14a} es
como se define anteriormente;
 o su sal o profármaco.
- 2.- El compuesto según la reivindicación 1, en el que
 R^2 es H, halógeno, alquilo(C_{1-4}), O(alquilo(C_{1-4})) o
20 N(alquilo(C_{1-4}))₂, y R^4 y R^5 no son ambos iguales.
- 3.- El compuesto según la reivindicación 2, en el que
 R^2 es H, Cl, F, alquilo(C_{1-4}), O(alquilo(C_{1-4})) o N(alquilo(C_{1-4}))₂.
- 4.- El compuesto según la reivindicación 3, en el que
25 R^2 es H, Cl, F, CH_3 , OMe u OEt.
- 5.- El compuesto según la reivindicación 4, en el que
 R^2 es H.
- 6.- El compuesto según la reivindicación 1, en el que
 R^4 es H.

179
131

- 7.- El compuesto según la reivindicación 1, en el que R^5 es CH_3 .
- 8.- El compuesto según la reivindicación 1, en el que R^{12} es halógeno, alquilo(C_{1-4}), CF_3 o NO_2 .
- 5 9.- El compuesto según la reivindicación 8, en el que R^{12} es Br, Cl, CH_3 o CH_3CH_2 .
- 10 10.- El compuesto según la reivindicación 9, en el que R^{12} es CH_3 o CH_3CH_2 .
- 11.- El compuesto según la reivindicación 1, en el que R^{13} es H, CH_3 , halógeno, OH o NH_2 .
- 12.- El compuesto según la reivindicación 11, en el que R^{13} es H, CH_3 u OH.
- 13.- El compuesto según la reivindicación 12, en el que R^{13} es H.
- 15 14.- El compuesto según la reivindicación 1, en el que R^{14} es COOH, COOMe, (alquénil(C_{2-4}))COOH o (alquil(C_{1-4}))COOH.
- 15.- El compuesto según la reivindicación 14, en el que R^{14} es COOH, $CH=CH-COOH$, CH_2COOH o CH_2CH_2COOH .
- 20 16.- El compuesto según la reivindicación 15, en el que R^{14} es COOH.
- 17.- Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1:



I

- en la que
- 25 R^2 es H, Cl, F, CH_3 , OMe o OEt; R^4 es H; R^5 es CH_3 ; R^{12} es Br, Cl, CH_3 o CH_3CH_2 ; R^{13} es H, CH_3 u OH; y R^{14} es COOH, $CH=CH-COOH$, CH_2COOH o CH_2CH_2COOH ; o su sal o profármaco.
- 18.- Un compuesto según la reivindicación 17, en el que R^2 es H; R^4 es H; R^5 es CH_3 ; R^{12} es CH_3 o CH_3CH_2 ; R^{13} es H; y R^{14} es COOH; o su sal o profármaco.

~~130~~
132

19.- Una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de la infección por HIV, que comprende un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20.- Un método para el tratamiento o la profilaxis de la infección por HIV, que comprende administrar a un paciente una cantidad inhibidora de HIV de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, o su sal farmacéuticamente aceptable, o una composición farmacéutica del mismo.

21.- Un método para tratar o prevenir una infección por HIV, que comprende administrar a un paciente una cantidad inhibidora de HIV de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 19, o su sal farmacéuticamente aceptable.

22.- Un método para tratar o prevenir una infección por HIV, que comprende administrar un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en combinación con un agente antirretrovírico.

23.- Un método para evitar la transmisión perinatal del HIV-1 desde la madre al bebé, que comprende administrar un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 a la madre antes del parto.

24.- Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección por HIV.

25.- Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para la prevención de la transmisión perinatal del HIV-1 desde la madre al bebé.

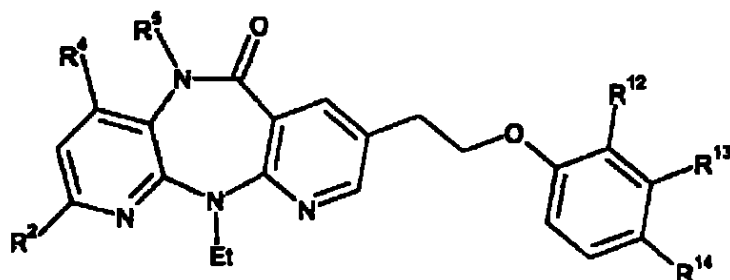
35

COLO 09255-841-009-5
PRP/WPCL9255/ID-000258

133

RESUMEN

Se describen compuestos de fórmula I:



I

5 en la que

R² es H, halógeno, alquilo(C₁₋₄), O(alquilo(C₁₋₄)), NH(alquilo(C₁₋₄)) o N(alquilo(C₁₋₄))₂;

R⁴ es H o CH₃;

R⁵ es H o CH₃;

10 R¹² es H, halógeno, alquilo(C₁₋₄), CF₃ o NO₂;

R¹³ es H, alquilo(C₁₋₄), halógeno, OH o NH₂, con la condición de que R¹² y R¹³ no son ambos H; y

R¹⁴ es COOR^{14a}, en el que R^{14a} es H o alquilo(C₁₋₆); o R¹⁴ es (alquenil(C₂₋₄))COOR^{14a}, en el que R^{14a} es como se define en la presente; o R¹⁴ es (alquil(C₁₋₄))COOR^{14a}, en el que R^{14a} es como se define anteriormente;

15 o su sal o profármaco, útiles como inhibidores de la transcriptasa inversa de HIV.

20

25

132
134

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO

Radicación : 04107505 00000000 Folios: 132
Fecha (AMD): 2004-10-25 17:41:06
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 900174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 83,502
FECHA : OCTUBRE 25 DE 2004

******* CONSIGNACION *******

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	32750692	25/10/2004	55,455,000.00

******* CONCEPTO *******

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
		TOTAL :	422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Cblo 09255-841-009-5

133
135

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 o fotografica 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

Fecha

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion 04107505 00000000

Folios. 132

Fecha (AÑO): 2004-10-25 17:41:06

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INCI 411 PRESENTA

Dependencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
EMILIO FERRERO
Apoderado(a)
BOEHRINGER INGELHEIM

REFERENCIA:	Radicación N°	04-107585
	Solicitud internacional	PCT/CA03/00418
	Fecha inicio fase nacional	27/10/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio N°	1617
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486, de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la oficina de comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la Decisión 486.

Cúmplase
Dado en Bogotá D C,

05 NOV. 2004


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe División de Nuevas Creaciones.

202044