

CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 41
BOGOTÁ 8, C

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Teléfono: (57-1) 247 3611
3650
1814
743

Señora Directora
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.



No. 05-016420-00009-0000

Fecha: 2010-08-17 16:27:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 14

Trámite : 011
Evento : 379
Actuación : 444

Referencia : Expediente No. 05016420
Asunto : Solicitud de patente para **DERIVADOS DE INDOLINONA SUSTITUIDOS EN POSICIÓN 6, SU PREPARACIÓN Y SU USO COMO MEDICAMENTOS**
Solicitante : **BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA GMBH & CO. KG**
Fecha de Solicitud: 22 de febrero de 2005

1. Yo, Luz Clemencia de PAEZ, obrando como apoderada del solicitante en el asunto antes identificado, me refiero al Oficio No. **4824** notificado por fijación en lista del 6 de julio de 2010. Para atender a la mencionada providencia solicité un plazo de treinta (30) días mediante memorial radicado el 6 de julio de 2010.

2. Mediante el Oficio No. **4824** se puso en conocimiento del solicitante el informe del examen de fondo que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente.

Atiendo a las observaciones de la manera siguiente:

3. Descripción y Reivindicaciones.

En forma resumida su Despacho concluye que en el pliego reivindicatorio existe una falta de congruencia entre la materia que se reclama en la reivindicación 1 y la que se reclama en la reivindicación 7.

437
437

4. Modificación a una solicitud en trámite

Con respecto a lo señalado por su Despacho mi representada desea señalar lo siguiente:

Con el fin de atender la anterior observación y de acuerdo al artículo 34 de la Decisión 486, se presenta un nuevo capítulo reivindicatorio, conformado por 7 reivindicaciones como sustituto del anteriormente presentado. De tal manera que, las objeciones formuladas a este respecto quedan superadas respectivamente con las modificaciones realizadas de la siguiente manera:

- La reivindicación 7 ha sido redactada nuevamente con el fin de hacerla dependiente de la reivindicación independiente 1, y de esta manera especificar claramente que el compuesto allí revelado es un intermediario novedoso para la síntesis del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.

4.1 Argumentos a favor de la novedad de la presente solicitud

El Examinador afirma que todos los elementos de la presente invención mostrados en las reivindicaciones 1 y 7 ya fueron divulgados en D1.

A este respecto, inicialmente deseamos poner de presente que tal como lo afirma el Examinador en la Tabla 1 del Oficio No. 4824, en el documento D1 el sustituyente R³ representa un grupo fenilo o un grupo naftilo sustituido, mientras que en la presente invención el sustituyente R³, el cual se encuentra en el mismo lugar que en D1, representa un grupo fenilo sustituido por un carboxi-alquilo o un grupo alcoxi C₁₋₄-carbonil-alquilo C₁₋₃. ①

438
438

Así las cosas, la anterioridad D1 no revela el conjunto de elementos técnicos que caracterizan los compuestos reivindicados de indolil-2-ona, tal como lo afirma el Examinador. Por lo tanto, la presente invención es novedosa frente al documento D1.

4.2 Argumentos a favor del nivel inventivo de la presente solicitud

El Examinador afirma que "a partir de las enseñanzas que revelan en conjunto las publicaciones del estado del arte D1 y D2 es posible derivar los elementos característicos de los compuestos reivindicados, por lo que a los ojos de una persona versada en la materia resultarían obvias las modificaciones que se precisan para el núcleo de las indolil-2onas con actividad anticancerígena".

Respecto a lo anterior, deseamos poner de presente que la invención objeto de estudio no solo presenta 2 diferencias estructurales (tal como lo afirma el Examinador) con respecto a las estructuras enseñadas en D2, sino que presenta tres diferencias estructurales sustanciales con respecto a los compuestos revelados en D2. Por consiguiente, D2 difiere de la presente solicitud en lo que se refiere a X, R³ y R¹ de D2. De esta manera, el sustituyente X en D2 no puede ser sustituido por un grupo fenilo. Adicionalmente, el sustituyente R³ en D2 no representa un halógeno o un grupo ciano; y el sustituyente R¹ en D2 es un sustituyente diferente a un átomo de hidrógeno.

(2)

De esta manera, aunque D2 es correctamente considerado como documento del estado del arte tanto por el Examinador de su Despacho como en el Reporte de Búsqueda Internacional, en dicho reporte de búsqueda dicho documento no es clasificado dentro de

439
439

aquellos que afectan el nivel inventivo de la invención. En consecuencia, es claro que las diferencias sustanciales de dicha anterioridad con respecto a la presente invención, fueron las que llevaron al Examinador internacional a concluir que la anterioridad D2 no puede considerarse como un documento que afecta la actividad inventiva de la presente solicitud.

Lo anterior, adicionalmente debido a que las enseñanzas del documento D1 no llenan el vacío de las diferencias estructurales que existen entre los compuestos de D2 y los de la presente invención, debido a que tal como se mencionó anteriormente, la anterioridad D1 no revela la posibilidad de que el sustituyente R3 sea representado por un grupo fenilo sustituido, tal como se enseña en la presente solicitud.

(2)

Así entonces, no existe enseñanza objetiva alguna en la combinación de estos dos documentos que hubiera permitido derivar la presente invención y por ende, no es posible concluir que carece de nivel inventivo.

De otro lado, presentamos los siguientes datos experimentales adicionales, con el fin de demostrar el efecto tanto inesperado como mejorado alcanzado por la presente invención sobre las enseñanzas de las anterioridades citadas, y en especial con respecto al documento más cercano del estado del arte, D1.

Inicialmente, deseamos poner de presente que los compuestos que inhiben selectivamente una cantidad pequeña de proteína quinasas o idealmente, solo una quinasa, pueden preferirse para el tratamiento de tumores, debido a que este hecho minimiza los efectos secundarios no deseados y permite tratar tumores basado en un efecto biológico específico transmitido por un ingrediente activo.

440

440

Así las cosas, aunque en la presente solicitud en la página 27 línea 6 se afirma que los compuestos de la presente invención proveen acción inhibitoria sobre diversas tirosina quinasas, el objetivo de la presente solicitud es inhibir selectivamente la proliferación de células endoteliales involucradas en la angiogénesis (formación y crecimiento de los vasos sanguíneos) con el fin de tratar enfermedades tumorales mediante la minimización del suministro de sangre al tumor. El crecimiento del tumor necesita el incremento del suministro de sangre del mismo y esto puede ser bloqueado con una buena selectividad mediante la inhibición sobre las tirosina quinasas VEGFR, con los compuestos de la presente aplicación. (3)

A continuación se muestra que los compuestos de la presente solicitud proveen una inhibición a las tirosina quinasas VEGFR tanto efectiva como selectiva, lo que no es mostrado por los documentos del estado del arte, específicamente la anterioridad D1.

Compuestos de acuerdo con la presente invención:

Dichos compuestos muestran claramente una mayor diferencia de inhibición entre las quinasas CDK y VEGFR, tal como se muestra en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1. Datos farmacológicos de los compuestos ejemplificados en la presente solicitud

Compuesto	Inhibición VEGFR2 [nM]	Inhibición CDK4 [nM]
Ejemplo 6.3	55	2600
Ejemplo 5.3	120	2600
Ejemplo 10	88	> 10000
Ejemplo 11	110	> 10000
Ejemplo 11.1	110	> 10000

(4)

441
441

Deseamos poner de presente que la CDK2 y CDK4 son quinasas homólogas de la clase CDK, y que poseen actividad inespecífica antiproliferativa para todo tipo de células, mientras que la VEGFR2 inhibe selectivamente la proliferación de células endoteliales y por lo tanto provee inhibición de la angiogénesis.

Los resultados de la anterior Tabla muestran una inesperada y elevada selectividad de más de 20 veces entre la inhibición de VEGFR2 y CDK4 para los compuestos de la presente invención, proporcionando así un enfoque para la inhibición selectiva de la angiogénesis.

(4)

Compuestos de acuerdo con la presente invención:

El documento D1 no revela ni sugiere una estructura en la cual la posición 8 (el átomo de carbono sustituido por R^3 en la fórmula general (I)) de la estructura represente un átomo de carbono sustituido por un grupo fenilo sustituido en el cual el sustituyente del grupo fenilo es definido como en la reivindicación 1.

Adicionalmente, la anterioridad D1 contiene solo ejemplos en los cuales el grupo fenilo unido al átomo de carbono en la posición 8 se encuentra sustituido cuando la indolil-2-ona no se encuentra sustituida en ninguna de las posiciones 4 a 7 o cuando se encuentra sustituida solamente en la posición 5. De otro lado, en la presente invención la indolil-2-ona se encuentra siempre sustituida en la posición 6. Por lo tanto, el enfoque de D1 es sustancialmente diferente al enfoque de la presente invención, al menos en lo referente a las características estructurales de los compuestos.

(5)

?

442

442

Los compuestos revelados en D1 son inhibidores más potentes con respecto a CDK4 que a VEGFR2, tal como se muestra a continuación.

Tabla 2. Datos farmacológicos de los compuestos ejemplificados en D1

Compuesto	Inhibición VEGFR2 [nM]	Inhibición CDK4 [nM]
Ejemplo 149 ✓	790	36
Ejemplo 55 ✓	3700	170
Ejemplo 35 ✓	6200	51
Ejemplo 41 ✓	6900	160
Ejemplo 94 ✓	4000	41
Ejemplo 114 ✓	4000	190
Ejemplo 48 ✓	500	76
Ejemplo 202 ✓	530	61
Ejemplo 99 ✓	2000	99
Ejemplo 117 ✓	1400	3,8
Ejemplo 100 ✓	180	93
Ejemplo 222 ✓	100000	430
Ejemplo 220 ✓	10000	230
Ejemplo 211 ✓	500	310
Ejemplo 170 ✓	140	0,6
Ejemplo 140 ✓	2100	300

6

Dado lo anterior, los compuestos de D1 proveen un efecto no selectivo antiproliferativo en todos los tipos de células, mientras que los compuestos de la presente solicitud muestran una selectividad alta de inhibición de mas de 20 veces entre VEGFR2 y CDK4 (Ver Tabla 1) y en consecuencia, proporcionan un enfoque para la inhibición de la angiogénesis selectiva.

6.

Así las cosas, los resultados anteriores confirman que la presente invención posee nivel inventivo frente al estado del arte.

Por consiguiente, debido a la ventaja inesperada aportada por la presente invención y debido a que al tomar en combinación las

443
443

enseñanzas de las anterioridades D1 y D2 una persona versada en la materia no derivaría de manera obvia la presente invención, consideramos que queda demostrada la altura inventiva de la presente solicitud.

Puesto que se han atendido a cabalidad las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente, respetuosamente solicito se continúe con su tramitación. Sin embargo, en el evento que el Despacho considere que una modificación adicional es necesaria, respetuosamente le solicito hacer uso de la facultad que le otorga el artículo 45 inciso 2 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina a efecto de requerir nuevamente de nuestra parte cualquier complementación o aclaración.

5. Anexos.

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 7 reivindicaciones.
- Formulario para modificaciones.

Señora Directora,

Luiz Clemencia de Paez
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

T.P.A. No. 23.555

CC. 35.456.344 de Usaquén

FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

1	SOLICITUD DE: ☐ Corrección de Error Material ☒ Modificación a una solicitud	
2 SOLICITANTE	Nombre: BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA GMBH & CO. KG Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Alemania. Dirección: 55216 Ingelheim, Alemania Domicilio: Ingelheim, Alemania Teléfono: 546 09 70 Fax: 249 40 70 E-mail: clientes@cavelier.com	IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: Luz Clemencia de PAEZ Dirección: Carrera 4ª No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 217 92 11 E-mail: cavelier@cavelier.com	IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: <u>35.456.344</u> TP <u>23.555</u>
4	Número de expediente: <u>05.016.420</u>	
5	Descripción de la corrección o modificación solicitada: Presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 7 reivindicaciones con el fin de superar las objeciones hechas por Su Despacho a la presente solicitud de patente y pido respetuosamente que el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas. Respetuosamente manifiesto que a pesar de eliminar materia del pliego reivindicatorio originalmente presentado, mi representada no renuncia a la protección que pueda obtener sobre dicha materia y se reserva el derecho de presentar una solicitud divisional que la contenga durante el trámite de la presente solicitud, beneficiándose de la fecha de prioridad inicialmente reivindicada.	
6	Comprobante de pago No. _____ Fecha: _____	
7	Anexos ☐ Comprobante de pago de la tasa por \$114.000, por concepto de modificaciones. ☐ Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por. ☐ Poderes, si fuere el caso ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.	

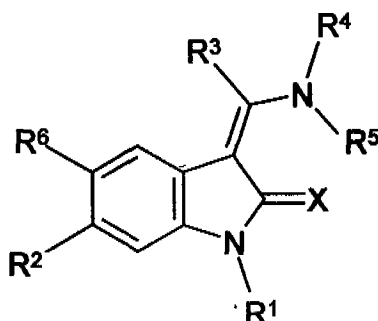
8 NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ FIRMA *Luz Clemencia De Paez*
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P.A. 23.555
DVF

445

445

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de la fórmula general



en la que significan

X un átomo de oxígeno,

R¹ un átomo de hidrógeno,

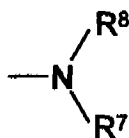
R² un átomo de flúor, cloro o bromo, o un grupo ciano,

R³ es un grupo fenilo sustituido con un grupo carboxi-alquilo C₁₋₃, o alcoxi C₁₋₄-carbonil-alquilo C₁₋₃.

R⁴ un grupo fenilo o un grupo fenilo monosustituido con

un grupo alquilo C₁₋₃ en posición final, sustituido en posición final con un grupo amino, guanidino, mono- o di(alquilo C₁₋₂)-amino, N-[ω-di-(alquilo C₁₋₃)-amino-alquilo C₂₋₃]-N-(alquilo C₁₋₃)-amino, N-metil(alquilo C₃₋₄)-amino, N-(alquilo C₁₋₃)-N-bencilamino, N-(alcoxi C₁₋₄-carbonil)-amino, N-(alcoxi C₁₋₄-carbonil)-alquilo C₁₋₄-amino, 4-(alquilo C₁₋₃)-piperazin-1-ilo, imidazol-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, acetidin-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperazin-1-ilo, tiomorfolin-4-ilo, con un grupo di-(alquilo C₁₋₃)-amino-(alquilo C₁₋₃)-sulfonilo, 2-[di-(alquilo C₁₋₃)-amino]-etoxi, 4-(alquilo C₁₋₃)-piperazin-1-il-carbonilo, ω-[di-(alquilo C₁₋₃)-amino]-(alquilo C₂₋₃)-N-(alquilo C₁₋₃)-aminocarbonilo, 1-(alquilo C₁₋₃)-imidazol-2-ilo, (alquilo C₁₋₃)-sulfonilo, o

con un grupo de la fórmula



en la que

R⁷ significa un grupo alquilo C₁₋₂, alquilo C₁₋₂-carbonilo, di-(alquilo C₁₋₂)-aminocarbonil-alquilo C₁₋₃ o alquilo C₁₋₃-sulfonilo, y

447
847

R⁸ significa un grupo alquilo C₁₋₃, ω-[di-(alquil C₁₋₂)-amino]-alquilo C₂₋₃, ω-[mono-(alquil C₁₋₂)-amino]-alquilo C₂₋₃, o un grupo (alquil C₁₋₃)-carbonilo, (alquil C₄₋₆)-carbonilo o carbonil-(alquilo C₁₋₃) sustituido en posición final con un grupo di-(alquil C₁₋₂)-amino, piperazin-1-ilo, o 4-(alquil C₁₋₃)-piperazin-1-ilo,

en el que todos los grupos dialquilamino contenidos en el resto R⁴ pueden estar presentes también en forma cuaternizada, por ejemplo como grupo N-metil-(N,N-dialquil)-amonio, en donde el contraión se selecciona, preferentemente, de yoduro, cloruro, bromuro, metilsulfonato, para-toluenosulfonato o trifluoroacetato,

R⁵ significa un átomo de hidrógeno y

R⁶ significa un átomo de hidrógeno

en los que los grupos alquilo anteriormente mencionados incluyen grupos alquilo lineales y ramificados, en los cuales uno hasta 3 átomos de hidrógeno pueden estar sustituidos por átomos de flúor, sus tautómeros, enantiómeros, diastereoisómeros, sus mezclas y sus sales.

2. Compuestos de la fórmula general I según la reivindicación 1, en los que R² es un átomo de flúor o de cloro.

3. Los siguientes compuestos de la fórmula general I según la reivindicación 1:

(a) 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(3-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona;

(b) 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(c) 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(3-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

448
448

(d) 3-Z-[1-(4-(N-4-metil-piperazin-1-il-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

103

105

110

(e) 3-Z-[1-(4-(N-(2-dimetilamino-etil)-N-metilsulfonil-amino)-anilino)-1-(4-(2-carboxietil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(f) 3-Z-[1-(4-(N-(3-dimetilamino-propil)-N-acetil-amino)-anilino)-1-(4-(2-carboxietil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(g) 3-Z-[1-(4-(1-metil-imidazol-2-il)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(h) 3-Z-[1-(4-(N-(dimetilamino-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

cx 99

106

(i) 3-Z-[1-(4-(N-(2-dimetilamino-etilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(j) 3-Z-[1-(4-(pirrolidin-1-il-metil)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(k) 3-Z-[1-(4-dietilaminometil)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona;

(l) 3-Z-[1-(4-(2-dimetilamino-etil)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-,etilen]-6-cloro-2-indolinona;

(m) 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona;

(n) 3-Z-[1-(4-(pirrolidin-1-il-metil)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona;

101

(o) 3-Z-[1-(4-(pirrolidin-1-il-metil)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-bromo-2-indolinona;

449

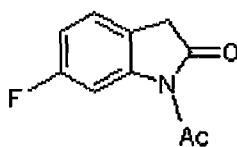
449.

(p) 3-Z-[1-(4-(dimetilaminometil)-anilino)-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-bromo-2-indolinona;

(q) 3-Z-[1-(4-(dietilaminometil)-anilino)—(4-(2-carboxi-etil)-metilen]-6-bromo-2-indolinona,

así como sus sales.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 3-Z-[1-(4-dimetilamino metilanilino)-1-(4-(2-etoxicarboniletil)fenil)metilen]-6-fluoro-2-indolinona.
5. Sales fisiológicamente tolerables de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
6. Medicamento que contiene un compuesto de la fórmula general I según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal fisiológicamente tolerable según la reivindicación 4, eventualmente junto con uno o múltiples vehículos portadores inertes y/o diluyentes.
7. El compuesto intermediario para la manufactura de los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R^2 representa un átomo de flúor: 1-acetil-6-fluoro-2-indolinona



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: 2 196 860

51 Int. Cl.: C07D 209/34

A61K 31/40

C07D 209/48

C07D 401/12

C07D 403/12

450
≈ D₁
450
Ex 12.
14
15
19
25
1
2x
T3 43
44
50
51
52
54

12

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

86 Número de solicitud europea: 99947404.2

86 Fecha de presentación: 22.09.1999

87 Número de publicación de la solicitud: 1 115 704

87 Fecha de publicación de la solicitud: 18.07.2001

54 Título: **Nuevas indolinas sustituidas con efecto inhibidor sobre diferentes cinasas y diferentes complejos ciclina/CDK.**

30 Prioridad: 25.09.1998 DE 198 44 003
07.08.1999 DE 199 37 496

73 Titular/es: Boehringer Ingelheim Pharma
GmbH & Co.KG
Binger Strasse 173
55218 Ingelheim am Rhein, DE

45 Fecha de la publicación de la mención BOPI:
16.12.2003

72 Inventor/es: Walter, Rainer; Grell, Wolfgang;
Heckel, Armin; Himmelsbach, Frank;
Eberlein, Wolfgang; Roth, Gerald;
Meel, Jacobus C. A. van;
Redemann, Norbert; Spevak, Walter;
Tontsch-Grunt, Ulrike y Rüden, Thomas von

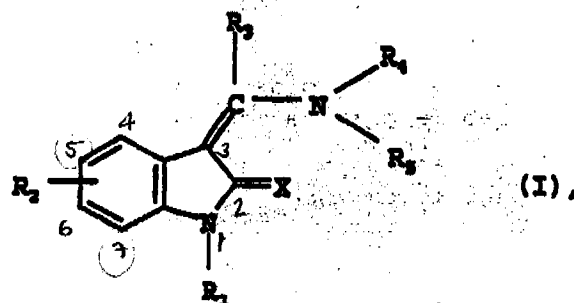
45 Fecha de la publicación del folleto de patente:
16.12.2003

74 Agente: Tavira Montes-Jovellar, Antonio

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

REIVINDICACIONES

1. Indolinonas sustituidas de la fórmula general



en las que

X significa un átomo de oxígeno o azufre,

R₁ significa un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo C₁ - 3 o hidroxilo,

R₂ significa un átomo de hidrógeno, flúor, cloro, bromo o yodo, o un grupo alquilo C₁ - 3 o nitro,

R₃ significa un grupo fenilo o naftilo, que en cada caso pueden estar mono - o di - sustituidos con átomos de flúor, cloro, bromo o yodo, o con grupos alquilo C₁ - 3, alcoxi C₁ - 3, carboxi, ciano, trifluorometilo, nitro, amino, alquil C₁ - 3 - amino, di - (alquil C₁ - 3) - amino, alquil C₁ - 3 - sulfonilamino, amino - alquilo C₁ - 3, 2 - carboxi - fenilcarboxilaminometilo, alquil C₁ - 3 - amino - alquilo C₁ - 3, alcanosil C₂ - 4 - amino - alquilo C₁ - 3, N - (alcanosil C₂ - 4) - alquil C₁ - 3 - amino - alquilo C₁ - 3, di - (alquil C₁ - 3) - amino - alquilo C₁ - 3, carboxi - alquenoilo C₂ - 3, N - (carboxi - alquil C₁ - 3) - aminocarbonilo, N - (carboxi - alquil C₁ - 3) - N - (alquil C₁ - 3) - aminocarbonilo o imidazolil - alquilo C₁ - 3, pudiendo los sustituyentes ser iguales o diferentes,

R₄ significa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁ - 3, y

R₅ significa un grupo fenilo o naftilo eventualmente sustituido con un grupo alquilo C₁ - 3, que en cada caso pueden estar sustituidos adicionalmente en la parte aromática

con un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo,

con un grupo alquilo C₁ - 3, alcoxi C₁ - 3, ciano, nitro o trifluorometilo,

con un grupo alcoxi C₁ - 3, que está sustituido con un grupo carboxi, aminocarbonilo, alquil C₁ - 3 - aminocarbonilo o di - (alquil C₁ - 3) - aminocarbonilo, o que en posición 2 ó 3 también está sustituido con un grupo amino, alquil C₁ - 3 - amino, di - (alquil C₁ - 3) - amino, fenil - alquil C₁ - 3 - amino, N - (fenil - alquil C₁ - 3) - N - (alquil C₁ - 3) - amino, pirrolidino, piperidino o hexametenilimino,

con un grupo alquenoilo C₂ - 3 eventualmente sustituido con un grupo di - (alquil C₁ - 3) - amino, que en la parte de alquenoilo puede estar sustituido adicionalmente con un átomo de cloro o bromo,

con un grupo alquenoilo C₂ - 3 eventualmente sustituido con un grupo di - (alquil C₁ - 3) - amino,

con un grupo alquilo C₁ - 3, que está sustituido con un grupo (cicloalquilen de 3 a 7 miembros) - amino, con un grupo deshidropiperidino, morfolino, tiomorfolino, 1 - óxido - tiomorfolino, 1,1 - dióxido - tiomorfolino, piperazino, N - (alquil C₁ - 3) - piperazino, N - (alcanosil C₁ - 3) - piperazino o N - (alcoxi C₁ - 5 - carbonil) - piperazino,

realizándose que los sustituyentes antes mencionados pueden estar sustituidos con un grupo alquilo C₁ - 3, fenilo o fenil - alquilo C₁ - 3, y realizándose que los grupos piperidino o hexametenilimino antes mencionados pueden estar sustituidos adicionalmente con un grupo alquilo C₁ - 3 o en posición 3 ó 4 con un grupo hidroxilo, alcoxi C₁ - 3, hidroxil - alquilo C₁ - 3, carboxi, aminocarbonilo, N - (alquil C₁ - 3) - aminocarbonilo o N,N - di - (alquil C₁ - 3) - aminocarbonilo.

452
482

con un grupo alquilo $C_1 - 3$ sustituido con un grupo hidroxilo, alcoxi $C_1 - 3$, carboxi o ciano, realizándose que un grupo alquilo $C_1 - 3$ sustituido con un grupo carboxi puede estar sustituido adicionalmente en la parte de alquilo con un grupo amino o alcoxi $C_1 - 5$ - carbonilamino,

con un grupo aminocarbonilamino, amidino o guanidino eventualmente sustituido con uno o dos grupos alquilo $C_1 - 3$,

con un grupo piperidino, hexametenimino, morfolino, piperazino o N - (alquil $C_1 - 3$) - piperazino,

con un grupo formilo, carboxi o trifluoroacetilo,

con un grupo carbonilo,

que está sustituido con un grupo alquilo $C_1 - 3$, alcoxi $C_1 - 3$ - alquilo $C_1 - 3$, amino, alquil $C_1 - 5$ - amino o di - (alquil $C_1 - 3$) - amino, realizándose que los grupos amino y alquil $C_1 - 3$ - amino antes mencionados pueden estar sustituidos adicionalmente en el átomo de nitrógeno con un grupo carboxi - alquilo $C_1 - 3$, o con un grupo alquilo $C_2 - 3$, que en posición 2 ó 3 puede estar sustituido con un grupo hidroxilo, alcoxi $C_1 - 3$, amino, alquil $C_1 - 3$ - amino o di - (alquil $C_1 - 3$) - amino,

con un grupo pirrolidinocarbonilo, piperidinocarbonilo, hexameteniminocarbonilo, morfolinocarbonilo, piperazinocarbonilo, N - (alquil $C_1 - 3$) - piperazinocarbonilo o N - (fenil - alquil $C_1 - 3$) - piperazinocarbonilo,

con un grupo amidosulfonilo, pirrolidinossulfonilo, piperidinossulfonilo o hexameteniminosulfonilo, con un grupo alquil $C_1 - 3$ - amidosulfonilo o di - (alquil $C_1 - 3$) - amidosulfonilo, en los que una parte de alquilo puede estar sustituida en cada caso con un grupo carboxi, aminocarbonilo, N - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo o N,N - di - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo o también en posición 2 ó 3 con un grupo alquil $C_1 - 3$ - amino o di - (alquil $C_1 - 3$) - amino,

con un grupo amino, alquil $C_1 - 5$ - amino, cicloalquil $C_3 - 7$ - amino, fenil - alquil $C_1 - 3$ - amino, fenil - amino, (heteroaril de 6 miembros) - amino, amino - alquilo $C_1 - 3$, N - (alquil $C_1 - 5$) - amino - alquilo $C_1 - 3$, di - (alquil $C_1 - 5$) - amino - alquilo $C_1 - 3$, cicloalquil $C_3 - 7$ - amino - alquilo $C_1 - 3$, N - (alquil $C_1 - 5$) - cicloalquil $C_3 - 7$ - amino - alquilo $C_1 - 3$, fenilamino - alquilo $C_1 - 3$, N - (alquil $C_1 - 3$) - fenilamino - alquilo $C_1 - 3$, fenil - alquil $C_1 - 3$ - amino - alquilo $C_1 - 3$, o N - (alquil $C_1 - 5$) - fenil - alquil $C_1 - 3$ - amino - alquilo $C_1 - 3$,

o con un grupo (heteroaril de 6 miembros) - amino - alquilo $C_1 - 3$ eventualmente sustituido en el átomo de nitrógeno con un grupo alquilo $C_1 - 5$, realizándose que la parte de N - alquilo de los grupos antes mencionados puede estar sustituida en cada caso con un grupo ciano, carboxi, aminocarbonilo, alquil $C_1 - 3$ - aminocarbonilo, di - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo, 2 - [di - (alquil $C_1 - 3$) - amino] - etilaminocarbonilo, 3 - [di - (alquil $C_1 - 3$) - amino] - propilaminocarbonilo, N - {2 - [di - (alquil $C_1 - 3$) - amino] - etil} - N - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo o N - {3 - [di - (alquil $C_1 - 3$) - amino] - propil} - N - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo,

o puede estar sustituida en posición 2 ó 3 con un grupo hidroxilo, alcoxi $C_1 - 3$, amino, alquil $C_1 - 3$ - amino, di - (alquil $C_1 - 3$) - amino, pirrolidino, piperidino, hexametenimino, morfolino, piperazino o N - (alquil $C_1 - 3$) - piperazino, y que el átomo de nitrógeno de los grupos amino, N - (alquil $C_1 - 5$) - amino, cicloalquil $C_3 - 7$ - amino, fenil - alquil $C_1 - 3$ - amino, fenil - amino, (heteroaril de 6 miembros) - amino, amino - alquilo $C_1 - 3$ y N - (alquil $C_1 - 5$ - amino) - alquilo $C_1 - 3$ antes mencionados, puede estar sustituido adicionalmente

con un grupo alcoxi $C_1 - 5$ - carbonilo,

con un grupo formilo, trifluoroacetilo o benzilo,

con un grupo carboxi - alquilo $C_1 - 3$, aminocarbonil - alquilo $C_1 - 3$, N - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonil - alquilo $C_1 - 3$ o N,N - di - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonil - alquilo $C_1 - 3$,

con un grupo alquilo $C_1 - 5$, que con excepción de en la posición 1 puede estar sustituido con un grupo hidroxilo, alcoxi $C_1 - 3$, amino, alquil $C_1 - 3$ - amino o di - (alquil $C_1 - 3$) - amino,

con un grupo alcanosilo $C_2 - 4$, que en la parte de alcanosilo puede estar sustituido con un grupo carboxi, hidroxilo, alcoxi $C_1 - 3$, fenilo, amino, ftalimido, alquil $C_1 - 3$ - amino, di - (alquil $C_1 - 3$) - amino, pirrolidino, piperidino, hexametenimino o morfolino, o puede estar sustituido con un grupo piperazino eventualmente sustituido en el átomo de nitrógeno con un grupo alquilo $C_1 - 3$ o fenil - alquilo $C_1 - 3$, realizándose que la parte de alquilo de los sustituyentes alquil $C_1 - 3$ - amino y di - (alquil $C_1 - 3$) - amino antes mencionados

453
453

puede estar sustituida en posición 2 ó 3 con un grupo hidroxil, alcoxi $C_1 - 3$, amino, alcoxi $C_1 - 5$ - carbonil - amino, alquil $C_1 - 3$ - amino, di - (alquil $C_1 - 3$) - amino, fenilo, pirrolidino, piperidino, hexameteniminio o morfolino, con un grupo alquil $C_1 - 5$ - sulfonilo, en el que la parte de alquilo, con excepción de en la posición 1, puede estar sustituida con un grupo di - (alquil $C_1 - 3$) - amino, pirrolidino, piperidino, hexameteniminio o morfolino, con un grupo fenil - alquil ($C_1 - 3$) - sulfonilo o fenil - sulfonilo eventualmente sustituido en la parte de fenilo con un átomo de flúor, cloro o bromo o con un grupo alquilo $C_1 - 3$ o alcoxi $C_1 - 3$,

realizándose adicionalmente que un grupo carboxi, amino o imino presente puede estar sustituido con un radical separable *in vivo*, con la condición de que está excluido el compuesto 3 - [(α - fenilamino) - benziliden] - indolin - 2 - ona, sus isómeros y sus sales.

2. Indolinonas sustituidas de la fórmula general I de acuerdo con la reivindicación 1, en las que

X significa un átomo de oxígeno o azufre,

R_1 significa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo $C_1 - 3$, hidroxil, alcoxi $C_1 - 4$ - carbonilo o alcanosilo $C_2 - 4$,

R_2 significa un átomo de hidrógeno, flúor, cloro, bromo o yodo, o un grupo alquilo $C_1 - 3$ o nitro,

R_3 significa un grupo fenilo o naftilo, que en cada caso pueden estar mono - o di - sustituidos con átomos de flúor, cloro, bromo o yodo, o con un grupo alquilo $C_1 - 3$, imidazolimetilo, 2 - carboxi - etenilo, 2 - (alcoxi $C_1 - 3$ - carbonil) - etenilo, alcoxi $C_1 - 3$, ciano, carboxi, alcoxi $C_1 - 3$ - carbonilo, trifluorometilo, nitro, amino, ftalimidometilo, 2 - carboxi - fenilcarbonilaminometilo, alquil $C_1 - 3$ - amino, di - (alquil $C_1 - 3$) - amino, alquil $C_1 - 3$ - sulfonilamino, amino - alquilo $C_1 - 3$, alquil $C_1 - 3$ - amino - alquilo $C_1 - 3$, alcanosil $C_2 - 4$ - amino - alquilo $C_1 - 3$, N - (alcanosil $C_2 - 4$) - alquil $C_1 - 3$ - amino - alquilo $C_1 - 3$, di - (alquil $C_1 - 3$) - amino - alquilo $C_1 - 3$, carboxi - alquil $C_1 - 3$ - aminocarbonilo o alcoxi $C_1 - 3$ - carbonil - alquil $C_1 - 3$ - aminocarbonilo, pudiendo los sustituyentes ser iguales o diferentes,

R_4 significa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo $C_1 - 3$ y

R_5 significa un grupo fenilo o naftilo eventualmente sustituido con un grupo alquilo $C_1 - 3$, que pueden estar sustituidos adicionalmente en la parte aromática

con un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo,

o con un grupo alquilo $C_1 - 3$, alcoxi $C_1 - 3$, ciano, nitro o trifluorometilo, realizándose que el grupo alquilo antes mencionado puede estar sustituido al mismo tiempo con un grupo carboxi o alcoxi $C_1 - 3$ - carbonilo y con un grupo amino o alcoxi $C_1 - 4$ - carbonilamino,

con un grupo alquilo $C_1 - 3$, que está sustituido con un grupo (cicloalquilen de 4 a 7 miembros) - imino, con un grupo deshidropiperidino, morfolino, tiomorfolino, 1 - óxido - tiomorfolino, 1,1 - dióxido - tiomorfolino, piperazino o N - (alcoxi $C_1 - 4$ - carbonil) - piperazino, realizándose que los grupos piperidino, hexameteniminio, morfolino, tiomorfolino, 1 - óxido - tiomorfolino, 1,1 - dióxido - tiomorfolino y piperazino, antes mencionados, pueden estar sustituidos con un grupo alquilo $C_1 - 3$, fenilo o fenil - alquilo $C_1 - 3$, y que los grupos piperidino antes mencionados pueden estar sustituidos adicionalmente con un grupo alquilo $C_1 - 3$ o en posición 3 ó 4 con un grupo hidroxil, alcoxi $C_1 - 3$, hidroxil - alquilo $C_1 - 3$, carboxi, amino - carbonilo, N - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo o N,N - di - (alquil $C_1 - 3$) - aminocarbonilo,

con un grupo alquilo $C_1 - 3$ eventualmente sustituido con un grupo hidroxil, alcoxi $C_1 - 3$, carboxi, alcoxi $C_1 - 3$ - carbonilo o ciano,

con un grupo aminocarbonilamino, amidino o guanidino eventualmente sustituido con uno o dos grupos alquilo $C_1 - 3$,

con un grupo piperidino, hexameteniminio, morfolino, piperazino o N - (alquil $C_1 - 3$) - piperazino,

con un grupo formilo, carboxi, alcoxi $C_1 - 3$ - carbonilo o trifluoroacetilo,

con un grupo carbonilo, que

Valor de R_f : 0,37 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano, metanol y $\text{NH}_4\text{OH} = 9:1:0,1$)

Ejemplo 53

5 (Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - (4 - Bencil - piperazinometilcarbonyl) - N - metil - amino) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 43 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-[N-(4-bencil-piperazinometilcarbonyl)-N-metilamino]-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 55 % del teórico,

punto de fusión: 157-158°C

15

$\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_2$ (557,70)

Espectro de masas: $\text{M}^+ = 557$

20

Valor de R_f : 0,62 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano, metanol y $\text{NH}_4\text{OH} = 9:1:0,1$)

$\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ (575,72)

25

Calculado:	C 73,02	H 6,48	N 12,16
Encontrado:	73,10	6,46	12,13

Ejemplo 54

30 (Z) - Dihidrocloruro de 3 - { 1 - [4 - (N - piperazinometilcarbonyl) - N - metil - amino) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 2 - indolinona

390 mg (0,7 mmol) de (Z)-3-{1-[4-N-(N-bencil-piperazinometilcarbonyl)-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-2-indolinona se disuelven en 20 ml de diclorometano y después de haber añadido 0,2 g (1,4 mmol) del éster 1-cloro-etílico de ácido clorofórmico, se calienta durante 30 minutos a la temperatura ambiente y durante 60 minutos a reflujo. El disolvente se concentra por evaporación, el residuo se mezcla con 10 ml de metanol y se calienta a reflujo durante 90 minutos. Después de haber agitado durante 18 horas a la temperatura ambiente, el producto se filtra con succión, se lava con etanol y se seca.

40

Rendimiento: 200 mg (51 % del teórico),

punto de fusión: 255-258°C (con descomposición)

$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_2$ (467,58)

45

Espectro de masas: $\text{M}^+ = 467$

$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_2 \times 2 \text{HCl} \times \text{H}_2\text{O}$ (558,52)

50

Calculado:	C 60,22	H 5,96	N 12,70	Cl 12,70
Encontrado:	60,06	5,91	12,53	12,75

Ejemplo 55

(Z) - 3 - { 1 - (4 - Aminometil - fenilamino) - 1 - fenil - metiliden } - 2 - indolinona

55

a) (Z) - 3 - { 1 - (4 - Ciano - fenilamino) - 1 - fenil - metiliden } - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 1 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-amino-benzonitrilo en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio.

60

Rendimiento: 44 % del teórico,

455
455

Ejemplo 47

(Z)-3-{1-[4-(N-Acetil-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 1 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-(N-acetil-N-metil-amino)-anilina en DMF y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 50% del teórico,

punto de fusión: 287-288°C

$C_{24}H_{21}N_3O_2$ (383,45)

Espectro de masas: $M^+ = 383$

Calculado:	C 75,18	H 5,52	N 10,96
Encontrado:	75,18	5,62	10,89

Ejemplo 48

(Z) - Hidrocloruro de 3 - {1 - [4 - (N - dimetilaminometilcarbonil - N - metil - amino) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden} - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 43 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-(N-dimetilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 30% del teórico,

punto de fusión: 290-292°C

$C_{26}H_{26}N_4O_2$ (426,52)

Espectro de masas: $M^+ = 426$

$C_{26}H_{26}N_4O_2 \times HCl \times 2 H_2O$ (499,00)

Calculado:	C 62,58	H 6,26	N 11,23	Cl 7,10
Encontrado:	62,68	6,07	11,19	7,88

Ejemplo 49

(Z)-3-{1-[4-(N-Dietilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 43 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-(N-dietilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 64% del teórico,

punto de fusión: 242-247°C

$C_{28}H_{30}N_4O_2$ (454,58)

Espectro de masas: $M^+ = 454$

Valor de R_f : 0,56 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano, metanol y $NH_4OH = 9:1:0,1$)

$C_{28}H_{30}N_4O_2 \times 0,5 H_2O$ (454,57)

456
456

punto de fusión 255-256°C

$C_{24}H_{21}N_5O_4$ (443,47)

5 Espectro de masas: $M^+ = 443$

Calculado: C 65,00 H 4,77 N 15,79

Encontrado: 64,73 4,91 15,66

10 Ejemplo 140 ✓

(Z)-3-{1-[4-(N-Acetilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona

15 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 31 a partir de (Z)-3-{1-[4-(N-aminometilcarbonil-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona y de anhídrido de ácido acético en ácido acético glacial

Rendimiento: 83% del teórico,

20 punto de fusión: 277-278°C

$C_{28}H_{23}N_5O_5$ (485,50)

25 Espectro de masas: $M^+ = 485$

Valor de R_f : 0,6 (en gel de sílice; con una mezcla de acetato de etilo, metanol y $NH_4OH = 8:2:0,1$)

$C_{28}H_{23}N_4O_5 \times H_2O$ (503,52)

30 Calculado: C 62,02 H 5,00 N 13,91

Encontrado: 61,77 5,01 13,79

Ejemplo 141

35 (Z)-3-{1-[4-morfolinometilcarbonilaminometil-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 74 a partir de (Z)-1-poliestirilmetilaminocarbonil-3-{1-[4-morfolinometilcarbonil-aminometil]-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona y de una solución de hidróxido de sodio en dioxano.

Rendimiento: 33% del teórico,

punto de fusión: 290-295°C

45 $C_{28}H_{28}N_5O_5$ (513,56)

Espectro de masas: $M^+ = 513$

Calculado: C 65,49 H 5,30 N 13,64

Encontrado: 65,09 5,32 13,46

Ejemplo 142

55 (Z)-3-{1-[4-Dimetilanometilcarbonilaminometil-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 74 a partir de (Z)-1-poliestirilmetilaminocarbonil-3-{1-[4-dimetilaminometilcarbonil-aminometil]-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona y de una solución de hidróxido de sodio en dioxano.

60 Rendimiento: 32% del teórico,

452
487

Valor de R_f : 0,45 (en gel de sílice; con una mezcla de acetato de etilo, metanol y NH_4OH = 19:1:0:1)

$\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ (479,54)

5 Calculado: C 67,63 H 5,67 N 11,68
 Encontrado: C 67,63 H 5,63 N 11,59

Ejemplo 169

10 (Z) - 3 - { 1 - [4 - (4 - Metil - piperidinometil) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 89 a partir de 3 - (1 - etoxi - 1 - fenil - metiliden) - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - (4 - metil - piperidinometil) - anilina en DMF.

15 Rendimiento: 92 % del teórico,

punto de fusión: 161°C

20 $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3$ (468,56)

Espectro de masas: $\text{M}^+ = 468$

Valor de R_f : 0,3 (en gel de sílice; con una mezcla de acetato de etilo y metanol = 9:1)

25 $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ (477,57)

 Calculado: C 70,42 H 6,12 N 11,73
 Encontrado: 70,58 6,25 11,68

30 Ejemplo 170 ✓

(Z) - 3 - { 1 - (4 - Piperidinometil - fenilamino) - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

35 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 89 a partir de 3 - (1 - etoxi - 1 - fenil - metiliden) - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - (4 - piperidinometil) - anilina en DMF.

Rendimiento: 77 % del teórico,

40 punto de fusión: 242 - 243°C

$\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3$ (454,53)

Espectro de masas: $\text{M}^+ = 454$

45 Valor de R_f : 0,3 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano, metanol y NH_4OH = 9:1:0:1)

 Calculado: C 71,35 H 5,77 N 12,33
 Encontrado: 71,40 6,00 12,37

50 Ejemplo 171

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (4 - Metoxi - piperidinometil) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

55 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 89 a partir de 3 - (1 - etoxi - 1 - fenil - metiliden) - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - (4 - metoxi - piperidinometil) - anilina en DMF.

Rendimiento: 48 % del teórico,

60 punto de fusión: 204 - 206°C

450
458

Calculado: C 58,65 H 5,12 N 13,68
Encontrado: 58,19 4,96 13,49

Ejemplo 117

(Z)-3-[1-(4-Dimetilaminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-dimetilaminometil-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 73 % del teórico,

punto de fusión: 264-265°C

$C_{24}H_{23}N_4O_3$ (414,47)

Espectro de masas: $M^+ = 414$

Calculado: C 69,55 H 5,35 N 13,52
Encontrado: 69,29 5,31 13,33

Ejemplo 118

(Z)-3-[1-(4-Morfolinometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-morfolinometil-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 57 % del teórico,

punto de fusión: 273°C

$C_{26}H_{24}N_4O_4$ (456,51)

Espectro de masas: $M^+ = 456$

Valor de R_f : 0,43 (en gel de sílice; con una mezcla de acetato de etilo y metanol = 9:1)

$C_{26}H_{24}N_4O_4 \times H_2O$ (474,52)

Calculado: C 65,81 H 5,52 N 11,81
Encontrado: 65,24 5,44 11,62

Ejemplo 119

(Z)-3-[1-(4-Hexametileniminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 89 a partir de 3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-hexametileniminometil-anilina en DMF.

Rendimiento: 64 % del teórico,

punto de fusión: 220°C

$C_{28}H_{28}N_4O_3$ (468,56)

Espectro de masas: $M^+ = 468$

Valor de R_f : 0,25 (en gel de sílice; con una mezcla de acetato de etilo y metanol = 8:2)

Ejemplo 99

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - Dimetilaminometilcarbonyl - N - metil - amino) - 1 - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-(N-dimetilaminometilcarbonyl-N-metil-amino)-anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 91 % del teórico,

punto de fusión: 295-297°C

$C_{25}H_{25}N_5O_4$ (471,52)

Espectro de masas: $M^+ = 471$

$C_{25}H_{25}N_5O_4 \times 0,5 H_2O$ (480,5)

Calculado: C 64,99 H 5,45 N 14,57

Encontrado: 64,49 5,51 14,45

Ejemplo 100

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - Dietilaminometilcarbonyl - N - metil - amino) - 1 - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-(N-dietilaminometilcarbonyl-N-metil-amino)-anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 40 % del teórico,

punto de fusión: 225°C

$C_{28}H_{29}N_5O_4$ (499,57)

Espectro de masas: $M^+ = 499$

Calculado: C 67,37 H 5,85 N 14,02

Encontrado: 66,99 5,88 13,98

Ejemplo 101

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - piperidinometilcarbonyl - N - metil - amino) - 1 - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-(N-piperidinometilcarbonyl-N-metil-amino)-anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 80 % del teórico,

punto de fusión: 267-269°C

$C_{28}H_{29}N_5O_4$ (511,59)

Espectro de masas: $M^+ = 511$

Valor de R_f : 0,55 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano, metanol y $NH_4OH = 9:1:0,1$)

Ejemplo 114

(Z)-Hidrocloreuro de 3-[1-(4-aminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 29a a partir de (Z)-3-[1-(4-terc.-butoxycarbonilaminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona y de una mezcla de acetato de etilo y cloruro de hidrógeno.

Rendimiento: 86 % del teórico,

punto de fusión: >370°C

$C_{22}H_{18}N_4O_3$ (386,41)

Espectro de masas: $M^+ = 386$

$C_{22}H_{18}N_4O_3 \times HCl \times H_2O$ (440,89)

Calculado: C 59,93 H 4,80 N 12,71

Encontrado: 60,81 4,66 12,80

Ejemplo 115

(Z)-Hidrocloreuro de 3-[1-(4-aminometilcarbonilaminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 29a a partir de (Z)-3-[1-(4-terc.-butoxycarbonilaminometilcarbonilaminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona y de una mezcla de acetato de etilo y cloruro de hidrógeno.

Rendimiento: 76 % del teórico,

punto de fusión: 225-228°C

$C_{24}H_{21}N_5O_4$ (443,47)

Espectro de masas: $M^+ = 443$

$C_{24}H_{21}N_5O_4 \times HCl \times 1,5 H_2O$ (506,95)

Calculado: C 56,86 H 4,97 N 13,81

Encontrado: 56,71 4,91 13,57

Ejemplo 116

(Z)-Hidrocloreuro de 3-[1-(4-metilaminometilcarbonilaminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 29a a partir de (Z)-3-[1-(4-N-terc.-butoxycarbonil-N-metilamino)-metilcarbonilaminometil-fenilamino]-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona y de una mezcla de acetato de etilo y cloruro de hidrógeno.

Rendimiento: 76 % del teórico,

punto de fusión: 195-198°C

$C_{25}H_{23}N_5O_4$ (457,49)

Espectro de masas: $M^+ = 457$

$C_{25}H_{23}N_5O_4 \times HCl \times H_2O$ (511,97)

punto de fusión: 355-356°C (con descomposición)

$C_{22}H_{16}N_4O_4$ (400,40)

Espectro de masas: $M^+ = 400$

Calculado:	C 66,00	H 4,03	N 13,99
Encontrado:	65,59	4,13	13,85

Ejemplo 93

(Z)-3-[1-(4-Acetilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 31 a partir de (Z)-3-[1-(4-amino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona y de anhídrido de ácido acético en ácido acético glacial.

Rendimiento: 93 % del teórico,

punto de fusión: 328-330°C

$C_{23}H_{18}N_4O_4$ (414,42)

Espectro de masas: $M^+ = 414$

$C_{23}H_{18}N_4O_4 \cdot H_2O$ (432,44)

Calculado:	C 63,88	H 4,66	N 12,96
Encontrado:	64,09	4,68	12,34

Ejemplo 94

(Z)-3-[1-(4-Dimetilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-dimetilaminometilcarbonilamino-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 63 % del teórico,

punto de fusión: 254-257°C,

$C_{25}H_{23}N_5O_4$ (457,49)

Espectro de masas: $M^+ = 457$

Calculado:	C 65,64	H 5,07	N 15,31
Encontrado:	65,20	5,16	14,99

Ejemplo 95

(Z)-Hidrocloreuro de 3-[1-(4-dietilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 82 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-5-nitro-2-indolinona y de 4-dietilaminometilcarbonilamino-anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

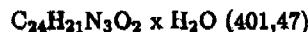
Rendimiento: 54 % del teórico,

punto de fusión: 287-288°C,

462
462



Espectro de masas: $M^+ = 383$



Calculado: C 71,80 H 5,77 N 10,47
Encontrado: 71,62 5,61 10,50

Ejemplo 40

(Z)-3-[1-(4-Metoximetilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la de los Ejemplos 1 y 39 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-fenil)-metiliden-2-indolinona y de 4-metoxi-metilcarbonilamino-anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 80 % del teórico,

punto de fusión: 238-240°C



Espectro de masas: $M^+ = 399$

Calculado: C 72,17 H 5,30 N 10,52
Encontrado: 71,92 5,33 10,44

Ejemplo 41 ✓

(Z)-3-[1-(4-Dimetilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 1 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-dimetilaminometilcarbonilamino-anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido en metanol.

Rendimiento: 68 % del teórico,

punto de fusión: 234-236°C



Espectro de masas: $M^+ = 412$

Valor de R_f : 0,28 (en gel de sílice; con una mezcla de acetato de etilo y metanol = 19:1)

Calculado: C 72,29 H 5,86 N 13,58
Encontrado: 72,35 5,83 13,37

Ejemplo 42

(Z)-Hidrocloreto de 3-[1-(4-dietilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 1 a partir de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenil-metiliden)-2-indolinona y de 4-dietilaminometilcarbonilamino-anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 80 % del teórico,

punto de fusión: 267-269°C

463
463

Calculado: C 74,78 H 5,18 N 11,37
Encontrado: 74,32 5,28 11,15

Ejemplo 32

(Z)-3-[1-(3-Acetilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 31 a partir de (Z)-3-[1-(3-amino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona y de anhídrido de ácido acético en ácido acético glacial.

Rendimiento: 89 % del teórico,
punto de fusión: 285-288°C.

$C_{23}H_{19}N_3O_2$ (369,43)

Espectro de masas: $M^+ = 369$

Calculado: C 74,78 H 5,18 N 11,37
Encontrado: 74,53 5,37 11,37

Ejemplo 33

(Z)-3-[1-(3-Trifluoroacetilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 31 a partir de (Z)-3-[1-(3-amino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona y de anhídrido de ácido trifluoroacético en ácido trifluoroacético.

Rendimiento: 79 % del teórico,
punto de fusión: 273-276°C

$C_{23}H_{16}F_3N_3O_2$ (423,40)

Espectro de masas: $M^+ = 423$

Calculado: C 65,25 H 3,81 N 9,92
Encontrado: 65,48 3,85 9,96

Ejemplo 34

(Z)-3-[1-(4-terc.-Butoxicarbonilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 18 a partir de (Z)-3-[1-(4-amino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona, N-terc.-butoxicarbonil-glicina, TBTU, HOBT y N-metil-morfolina en DMF.

Rendimiento: 31 % del teórico,
punto de fusión: 243-244°C (con descomposición)

$C_{28}H_{32}N_4O_4$ (484,56)

Espectro de masas: $M^+ = 484$

Calculado: C 69,41 H 5,82 N 11,56
Encontrado: 68,52 5,73 11,30

Ejemplo 35

(Z)-Hidrocloreto de 3-[1-(4-aminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona

Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 29a a partir de (Z)-3-[1-(4-terc.-butoxicarbonilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona y de una mezcla de acetato de etilo

46A
464

Espectro de masas: $M^+ = 515$

Valor de R_f : 0,61 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano y metanol = 9:1)

5 Ejemplo 149

(Z)-Dihidro-trifluoroacetato de 3-[1-(4-aminometil-fenilamino)-1-(4-aminometil-fenil)-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

10 Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 29a a partir de (Z) - 3 - {1 - [4 - terc. - butoxicar-bonilaminometil - fenilamino] - 1 - (4 - aminometil - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y ácido trifluoroacético en diclorometano.

15 Rendimiento: 54 % del teórico,

punto de fusión: 265°C

$C_{23}H_{21}N_5O_3$ (415,46)

20 Espectro de masas: $M^+ = 415$

Valor de R_f : 0,50 (en fase inversa P8; con una mezcla de metanol y una solución al 5 % de cloruro de sodio = 6:4)

25 $C_{23}H_{21}N_5O_3 \times 2 C_2HF_3O_2 \times 2 H_2O$ (679,53)

Calculado: C 47,72 H 4,00 N 10,30

Encontrado: 47,69 3,96 10,39

30 Ejemplo 150

(Z)-3-[1-(4-terc.-Butoxicarbonilaminometil-fenilamino)-1-(4-acetilaminometil-fenil)-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

35 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 31 a partir de (Z) - 3 - {1 - [4 - terc. - butoxicar-bonilaminometil - fenilamino] - 1 - (4 - aminometil - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y de anhídrido de ácido acético en dioxano.

40 Rendimiento: 61 % del teórico,

punto de fusión: 234°C (con descomposición)

$C_{30}H_{31}N_5O_6$ (557,61)

45 Espectro de masas: $M^+ = 557$

Valor de R_f : 0,60 (en gel de sílice; con una mezcla de diclorometano y metanol = 20:1)

50 $C_{30}H_{31}N_5O_6 \times 0,25 H_2O$ (562,12)

Calculado: C 64,07 H 5,70 N 12,46

Encontrado: 64,01 5,70 12,13

55 Ejemplo 151

(Z)-Dihidro-trifluoroacetato de 3-[1-(4-aminometil-fenilamino)-1-(4-acetilamino-metil-fenil)-metiliden]-5-nitro-2-indolinona

60 Preparado de una manera análoga a la del Ejemplo 29a a partir de (Z) - 3 - {1 - [4 - terc. - butoxicar-bonilaminometil - fenilamino] - 1 - (4 - acetilaminometil - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y ácido trifluoroacético en diclorometano.

465
465

Espectro de masas: $(M^+H)^+ = 536$

Ejemplo 202

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - (2 - Dimetilamino - etil) - N - metilsulfonyl - amino) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la de los Ejemplos 1 y 187 a partir de 1 - acetil - 3 - (1 - etoxi - 1 - fenil - metiliden) - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - [N - (2 - dimetilamino - etil) - N - metilsulfonyl - amino] - anilina en DMF, y por subsiguiente tratamiento con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 86 % del teórico,

punto de fusión: 276 - 277°C

$C_{26}H_{27}N_5O_5S$ (521,60)

Espectro de masas: $M^+ = 521$

Calculado: C 59,87 H 5,22 N 13,43

Encontrado: 60,03 5,19 13,39

Ejemplo 203

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - (2 - Morfolino - etil) - N - metilsulfonyl - amino) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la de los Ejemplos 1 y 187 a partir de 1 - acetil - 3 - (1 - etoxi - 1 - fenil - metiliden) - 5 - nitro - 2 - indolinona y de N - (2 - morfolino - etil) - N - metilsulfonyl - amino] - anilina en DMF, y por subsiguiente tratamiento con piperidina en metanol.

Rendimiento: 62 % del teórico,

punto de fusión: 255 - 257°C

$C_{26}H_{29}N_5O_5S$ (563,64)

Espectro de masas: $M^+ = 563$

Calculado: C 59,67 H 5,19 N 12,43

Encontrado: 59,20 5,30 12,18

Ejemplo 204

(Z) - 3 - { 1 - [4 - (N - Dimetilaminocarbonilmetil - N - etilsulfonyl - amino) - fenilamino] - 1 - fenil - metiliden } - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la de los Ejemplos 1 y 187 a partir de (Z) - 1 - acetil - 3 - [1 - (4 - etilsulfonylamino - fenilamino) - 1 - fenil - metiliden] - 2 - indolinona, N,N - dimetil - amida de ácido bromoacético y terc. - butilato de potasio en DMSO, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 30 % del teórico,

punto de fusión: 206 - 208°C

$C_{27}H_{28}N_4O_4S$ (504,61)

Espectro de masas: $M^+ = 504$

466
466 $C_{32}H_{29}N_5O_6S$ (611,68)Espectro de masas: $M^+ = 611$ 5 $C_{32}H_{29}N_5O_6S \times H_2O$ (629,69)

Calculado: C 61,04 H 4,96 N 11,12

Encontrado: 59,92 4,53 10,87

10 Ejemplo 211 ✓

(Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (p - tolil) - metiliden] - 2 - indolinona

15 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (p - tolil) - metiliden] - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 27% del teórico,

20 punto de fusión: 208 - 209°C

 $C_{25}H_{25}N_3O$ (383,50)Espectro de masas: $M^+ = 383$ 25 Valor de R_f : 0,35 (en gel de sílice, con una mezcla de acetato de etilo, metanol y $NH_4OH = 8:2:0,1$) $C_{25}H_{25}N_3O \times 0,3 H_2O$ (388,89)

30 Calculado: C 77,21 H 6,63 N 10,80

Encontrado: 77,45 6,39 10,70

Ejemplo 212

35 (Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (p - tolil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (p - tolil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

40 Rendimiento: 84% del teórico,

punto de fusión: 274 - 276°C

45 $C_{25}H_{24}N_3O$ (428,49)Espectro de masas: $(M+H)^+ = 429$; $(M-H)^- = 427$; $M^+ = 428$ Valor de R_f : 0,35 (en gel de sílice, con una mezcla de diclorometano, metanol y $NH_4OH = 9:1:0,1$)

50 Calculado: C 70,08 H 5,65 N 13,07

Encontrado: 70,17 5,50 12,86

Ejemplo 213

55 (Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (m - tolil) - metiliden] - 2 - indolinona

60 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (m - tolil) - metiliden] - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsecuente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 36% del teórico,

467
467

Rendimiento: 39 % del teórico,

punto de fusión: 235 - 235°C

5

$C_{24}H_{22}N_4O_3$ (414,47)

Espectro de masas: $M^+ = 414$

10 Valor de R_f : 0,5 (en gel de sílice, con una mezcla de diclorometano, metanol y $NH_4OH = 9:1:0,1$)

Calculado: C 69,55 H 5,35 N 13,52

Encontrado: 69,52 5,58 13,42

15 Ejemplo 220

(Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (4 - nitro - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona

20 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2, a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (4 - nitro - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 22 % del teórico,

25

punto de fusión: 233°C

$C_{24}H_{21}N_5O_5$ (459,47)

30 Espectro de masas: $M^+ = 459$

Calculado: C 62,74 H 4,61 N 15,24

Encontrado: 62,60 4,91 15,33

35 Ejemplo 221

(Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (4 - cloro - fenil) - metiliden] - 2 - indolinona

40 Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (4 - cloro - fenil) - metiliden] - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 46 % del teórico,

45

punto de fusión: 213°C

$C_{24}H_{22}ClN_3O$ (403,92)

Espectro de masas: $M^+ = 405/403$

50

Valor de R_f : 0,4 (en gel de sílice, con una mezcla de acetato de etilo, metanol y $NH_4OH = 8:2:0,1$)

$C_{24}H_{22}ClN_3O \times 0,5 H_2O$ (412,92)

55

Calculado: C 69,81 H 5,61 N 10,18

Encontrado: 70,06 5,87 10,13

60

Ejemplo 222

(Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (4 - cloro - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (4 - cloro - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 36% del teórico,

punto de fusión: 311°C

$C_{24}H_{21}ClN_4O_3$ (448,91)

Espectro de masas: $M^+ = 450 / 448$

Valor de R_f : 0,85 (en gel de sílice, con una mezcla de diclorometano y metanol = 8:2)

Calculado: C 64,21 H 4,71 N 12,48

Encontrado: 64,13 4,73 12,20

Ejemplo 223

(Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (3 - cloro - fenil) - metiliden] - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (3 - cloro - fenil) - metiliden] - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 14% del teórico,

punto de fusión: 197 - 198°C

$C_{24}H_{22}ClN_3O$ (403,92)

Espectro de masas: $M^+ = 405 / 403$

$C_{24}H_{22}ClN_3O \times 0,5 H_2O$ (412,92)

Calculado: C 69,81 H 5,61 N 10,18

Encontrado: 69,74 5,63 10,07

Ejemplo 224

(Z) - 3 - [1 - (4 - Dimetilaminometil - fenilamino) - 1 - (3 - cloro - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona

Preparada de una manera análoga a la del Ejemplo 2 a partir de 1 - acetil - 3 - [1 - cloro - 1 - (3 - cloro - fenil) - metiliden] - 5 - nitro - 2 - indolinona y de 4 - dimetilaminometil - anilina en DMF, y por tratamiento subsiguiente con una solución de hidróxido de sodio en metanol.

Rendimiento: 20% del teórico,

punto de fusión: 274°C

$C_{24}H_{21}ClN_4O_3$ (448,91)

Espectro de masas: $M^+ = 450 / 448$

$C_{24}H_{21}ClN_4O_3 \times 0,5 H_2O$ (457,92)

D⁴⁶⁹
2
~~469~~

J = 8.5 Hz, 0.5H); 10.8 (s, 0.5H); 11.3 (s, 0.5H); 12.85 (s, 0.5H); 12.95 (s, 0.5H). APCI-MS *m/z* 307 (M-1).

Procedure I - Method for palladium catalyzed coupling of 6-bromooxindole
5 with alkenyl and aromatic tin reagents: preparation of 6-vinyl oxindole.

To a mixture of 6-bromooxindole (Procedure D, 0.50 g, 2.4 mmol), vinyltributylstannane (0.95g, 3.0mmol), lithium chloride (.03g, 7.1mmol), 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (0.01g, 0.05mmol) in acetonitrile (25ml) stirring at 80°C was added dichlorobis(triphenylphosphine)palladium (II). The
10 resulting reaction was stirred with heating for 16h. The reaction was poured into a vigorously stirring mixture of 5M potassium fluoride solution: ethyl acetate/ 1:1 (250mL) and stirred for 0.75h. The resulting biphasic mixture was filtered through a Celite 521 pad and the pad flushed with ethyl acetate (5x200mL). The combined organic phases were washed with water
15 (200mL), saturated sodium chloride (200mL) and filtered through Whatman PS 1 paper and evaporated *in vacuo* to a golden yellow syrup. The syrup was titrated with diethyl ether to yield several crops of tan solid. Pure samples were combined, slurried with diethyl ether, filtered, and air dried to yield 0.12g (31%) of 6-vinyloxindole: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 10.36 (s,1H),
20 7.13 (d,1H, J=7.7Hz), 6.98 (d,1H, J=7.5Hz), 6.66 (dd,1H, J=10.9,17.7Hz), 5.70 (d,1H, J=17.6Hz), 5.18 (d,1H, J=10.9Hz), 3.42 (s,2H).

Example 1:

6-Bromo-3-[(Z and E)-[4-(4-

morpholinyl)anilino]methylidene)-1,3-dihydro-2H-indol-2-one.

25 Prepared from the dimethylaminomethylene derivative (Procedure E) of 6-bromo-oxindole (procedure D) and 4-(4-morpholino)aniline according to Procedure G in 87% yield to give ~4:1 isomer mixture. Principal isomer: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 10.67 (d, 1H, J=12.5Hz), 10.56(s,1H), 8.57 (d,1H, J=12.8Hz), 7.48 (d,1H, J=7.9Hz), 7.35 - 7.29 (m,2H), 7.11 - 7.04 (m, 3H),
30 6.93 (s,1H), 3.76 (s,4H), 3.15 (s, 4H); ES-MS *m/z*: 400, 402 (M + 1).

470
470

Example 2: **6-Bromo-3-[(Z and E)-[4-(4-pyridinylmethyl)anilino]methylidene]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one.**

Prepared according to Example 1 in 26% yield to give ~9:1 isomer mixture. Principal isomer: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 10.72 (d, 1H, $J=12.6\text{Hz}$), 10.65 (s, 1H), 8.66 (d, 1H, $J=12.8\text{Hz}$), 8.48 (d, 1H, $J=5.9\text{Hz}$), 7.55 (d, 1H, $J=8.1\text{Hz}$), 7.40 - 7.27 (m, 6H), 7.12 (dd, 1H, $J=1.8, 8.1\text{Hz}$), 6.99 (d, 1H, $J=1.8\text{Hz}$), 3.97 (s, 2H); APCI-MS m/s 404, 406 ($M-1$).

10 Example 3: **8-[(Z and E)-4-Toluidinomethylidene]-6,8-dihydroimidazo[4,5-e]indol-7(3H)-one.**

Sodium hydride (7.2 g, 60% in mineral oil, 0.18 mol) was added in portions over 30 min to a stirred solution of 5-aminobenzimidazole (15.0 g, 0.105 mol) in dry DMF (100 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. The reaction mixture was cooled to 0°C and a solution of di-tert-butyl dicarbonate (24.0 g, 0.110 mol) in dry DMF (25 mL) was added over 10 min. The reaction mixture was stirred at room temperature for 18 h. The solvent was evaporated under reduced pressure and the residue was partitioned between water (200 mL) and diethyl ether (200 mL). The organic phase was separated and the aqueous layer was extracted with diethyl ether. The combined organic extracts were washed with water and brine and dried over anhydrous magnesium sulfate. The drying agent was removed by filtration through a pad of silica gel and the filtrate evaporated to give a mixture of 5- and 6-amino-1-tert-butoxycarbonylbenzimidazole, 21.5 g (84%). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 8.40 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.55 (d, 1H, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.34 (d, 1H, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.13 (d, 1H, $J = 1.6\text{Hz}$), 6.83 (d, 1H, $J = 2\text{Hz}$), 6.68 (dd, 1H, $J = 8.8, 1.6\text{Hz}$), 6.60 (dd, 1H, $J = 8.4, 2\text{Hz}$), 1.61 (s, 9H), 1.60 (s, 9H).

To a cold (-78°C) solution of ethyl methylthioacetate (11.87 g, 88 mmol) in dry dichloromethane (300 mL) was added, dropwise, sulfuryl

471
471

For administration by inhalation the compounds according to the invention are conveniently delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurized packs or a nebulizer, with the use of a suitable propellant, e.g. dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, 5 dichlorotetrafluoroethane, tetrafluoroethane, heptafluoropropane, carbon dioxide or other suitable gas. In the case of a pressurized aerosol the dosage unit may be determined by providing a valve to deliver a metered amount. Capsules and cartridges of e.g. gelatin for use in an inhaler or insufflator may be formulated containing a powder mix of a compound of the 10 invention and a suitable powder base such as lactose or starch.

The preferred pharmaceutical compositions are those in a form suitable for oral administration, such as tablets and liquids and the like and topical formulations.

15

BIOLOGICAL DATA

The compounds of the present invention have valuable pharmacologic properties. Different compounds from this class are particularly effective at inhibiting the VEGF-R2 receptor kinase enzyme at concentrations which range from 0.0001 to 1 μ M and additionally show 20 selectivity relative to other kinases. Substrate phosphorylation assays were carried out as follows:

VEGFR-2

The peptide substrate used in the VEGFR-2 assay was biotin- 25 aminohexyl-EEEEYFELVAKKKK-NH₂. The kinase domain of the enzyme was purified to homogeneity from a baculovirus expression system. The enzyme was preactivated on ice for 15 min in the presence of 100 μ M ATP and 20 mM MgCl₂, and stored at -80°C until needed for assay. The activated enzyme was diluted to 0.4 nM into a 60 μ l reaction containing 100 30 mM HEPES, pH 7.5, 5 μ M ATP, 10 mM MgCl₂, 5 μ M peptide, 0.1 mM DTT,

472
472

0.05 mg/ml BSA, and an inhibitor at varying concentrations. The controls were reactions in the presence (negative controls) or absence (positive controls) of 50 mM EDTA. Reactions were incubated for 30 min at room temperature, and then quenched by the addition of EDTA to 60 mM in 210 5 μ l. The quenched samples (190 μ l) were transferred to a neutravidin-coated plate (Pierce) and incubated at room temperature for 40 min to allow biotinylated peptide to bind to the neutravidin. The unbound components of the reaction were removed by washing with a plate washer, then 200 μ l HRP-PY20 anti-phosphotyrosine antibody conjugate was added to each 10 well. After incubation for 40 min, the plate was washed to remove any unbound antibody. A HRP substrate, K-blue (Neogen) was added and the reaction was quenched with Red Stop (Neogen) after 20 min. The absorbance of the wells was read at A_{650} in a plate reader. IC_{50} values were obtained by fitting raw data to $A_{650} = V_{MAX} * (1 - [I]/(IC_{50} + [I])) + b$, where b is 15 background.

CDK1 and CDK2

Cyclin dependent protein kinase assays utilized the peptides Biotin-aminohexyl-AAKAKKTPKKAKK and Biotin-aminohexyl-ARRPMSPKKKA- 20 NH_2 as phosphoryl group acceptors. CDK1 and CDK2 were both expressed utilizing a baculovirus expression system and were partially purified to comprise 20-80% of total protein, with no detectable competing reactions present. Typically, assays were performed by incubating either enzyme (0.2-10 nM), with and without inhibitor, one of the two peptide substrates (1- 25 10 nM), $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ (1-20 nM), and 10-20 mM Mg^{2+} for periods of time generally within the range 10-120 min. Reactions were terminated with 0.2-2 volumes of either 20% acetic acid or 50-100 mM EDTA buffered to pH 7 (substrate consumption < 20%). The buffer employed in enzyme assays was either 30 mM HEPES 7.4 containing 0.15 M NaCl and 5% DMSO, the 30 buffer 50 mM MOPS 7.0 containing 0.15 M NaCl and 5% DMSO, or the

473
~~423~~

buffer 100 mM HEPES pH 7.5 containing 0.1 mg/mL BSA and 5% DMSO. Inhibitors were diluted in 100% DMSO prior to addition into the assay. Detection of peptide phosphorylation was accomplished by scintillation counting following either collection of peptide onto phosphocellulose filters
5 (for reactions stopped with acetic acid), collection of peptide in wells of 96 well plates coated with Streptavidin (Pierce) (reactions were stopped with EDTA), or addition of Avidin coated Scintillant Impregnated beads (Scintillation Proximity Assays from Amersham, reactions were stopped with EDTA). Counts detected by any of these methodologies minus the
10 appropriate background (assays with additional 40mM EDTA or lacking peptide substrate) were assumed to be proportional to the reaction initial rates, and IC50s were determined by a least squares fit to the equation $CPM = V_{max} * (1 - ([I]/(K + [I]))) + nsb$, or pIC50s were determined by a fit to the equation $CPM = nsb + (V_{max} - nsb) / (1 + (x/10^x - pIC50))$, where nsb are the
15 background counts.

Tle-2

The peptide substrate used in the Tle-2 assay was biotin-aminohexyl-LEAREYRWLGKKamide. The kinase domain of the enzyme was purified
20 to homogeneity from a baculovirus expression system. The enzyme was diluted to 10 nM into a 60 µl reaction containing 100 mM HEPES, pH 7.5, 500 µM ATP, 10 mM MgCl₂, 2 µM peptide, 1 mM DTT, 0.05 mg/ml BSA, and an inhibitor at varying concentrations. The controls were reactions in the presence (negative controls) or absence (positive controls) of 50 mM EDTA.
25 Reactions were incubated for 30 min at room temperature, and then quenched by stopped by 80 µl of 0.15 M EDTA. The quenched samples (125 µl) were transferred to a Neutravidin plates # 15128 and incubated at room temperature for 30-60 minutes, allowing the biotinylated peptide to bind to the neutravidin on the plates. The neutravidin plates were then washed
30 with water for 5 times. Europium conjugated anti-phosphotyrosine antibody,

474
~~474~~

(EG & G Wallac, # CR04-100) (1 mg/ml) was diluted 1:10,000 in 1%BSA-0.05% Tween 20-TBS, and 150 μ l of the diluted antibody was added to each well of the neutravidin plate, so the phosphorylated peptide was bound with the Europium labelled antibody. After another 30-60 min incubation at room temperature, the plates were washed again with water for 5 times. 150 μ l of Enhancemant solution was then added to each well, dissociating Eu^{3+} from solid phase bound antibodies to form a homogeneous and highly fluorescent $\text{Eu}-(2\text{-NTA})_3(\text{TOPO})_{2,3}$ micellar chelate solution. The plates were incubated for 10 minutes at room temperature to allow the above process, and fluorescent signal for each well was determined in a Wallac 1420 Victor Multilabel Counter with "Europium" protocol.

The kinase activity of all wells was calculated as %S, the percentage of the fluorescent counts vs. positive controls after subtraction of negative controls, as in eq. 1.

15

$$\% S = 100 * \frac{\text{Counts}_{\text{sample}} - \text{Counts}_{\text{negative}}}{\text{Counts}_{\text{positive}} - \text{Counts}_{\text{negative}}} \quad (1)$$

20

Plots of compound concentration versus %S were constructed. IC50s (K, expressed in units of molarity), the compound concentration at which the enzyme activity was inhibited by 50%, were determined from nonlinear least squares fits of the data to the simple competitive binding model of eq. 2.

25

$$\% S = \% S_{\text{max}} * (1 - (X / (K + X))) + Y_2 \quad (2)$$

Where %S is the experimentally observed count rate at sample compound concentration X, $\% S_{\text{max}}$ is the best fit value for the maximum amplitude of the concentration-response curve, Y_2 is the count rate observed at infinitely high inhibitor concentration.

30

475
475**c-Fms**

c-fms protein kinase assays utilized the peptide substrate, biotin-EAIYAAPFAKKK-NH₂, as the phosphoryl group acceptor. The c-fms intracellular domain was expressed from a baculovirus expression system, as an amino-terminal GST fusion protein, and purified to homogeneity using Glutathione agarose from Sigma Chemical Co.. Maximum activation of the enzyme was achieved by preactivation at room temperature for 120 min in the presence of 100 μ M ATP and 15 mM MgCl₂. This enzyme stock was diluted to 150 nM prior to using in the assay. Typically assays were performed in white, opaque, 96-well plates in a 45ul assay volume including 15ul 6% DMSO, with or without compounds, 15ul of the preactivated, diluted enzyme, and 15ul of a substrate mixture. Reactions contained 50 mM HEPES, pH 7.5, 1.7 μ M ATP, 15 mM MgCl₂, 3 μ M peptide, 2.5 mM DTT, 50mM NaCl and 0.15uCi/assay [³²P]ATP. The controls were reactions in the presence (negative controls) or absence (positive controls) of 50 mM EDTA. Reactions were allowed to proceed for 90 min at room temperature. The reaction products were quantified using Scintillation Proximity technology. The reactions were quenched by the addition of 200ul of a solution containing 0.3mg streptavidin SPA beads from Amersham, 50 mM EDTA, 0.1% TX-100, 50uM ATP, in PBS, pH7.2 (phosphate buffered solution). Plates were sealed and counted in a Packard Topcount scintillation counter. IC50 values were obtained by fitting raw data to the equation $y=V_{max}*(1-(x/(k+x)))$.

The results shown in Table 7 summarise representative data: Table 7 illustrates the inhibitory activity of compounds of the present invention against several different kinases (VEGFR2, CDK2, Tie-2, and c-fms).

Table 7. Kinase inhibition data of representative compounds

Compound	VEGFR2	CDK2	Tie-2	c-fms
Example 24	+++	++	+	+
Example 29	+++	+	+	+
Example 30	+++	+++	+	+

476
476

Compound	VEGFR2	CDK2	Tle-2	c-fms
Example 32	+++	++	+	+
Example 48	++++	+++	+	+
Example 55	++++	+++	+	+
Example 58	+++	+++	+	
Example 63	++++		+	
Example 66	++++		+	
Example 71	+++		+	
Example 72	++++		+	

Key (IC₅₀, nM)

1-10: +++++

11-50: +++

51-100: ++

>100: +

5

VEGF-R2 receptor kinase mediates intracellular signal transduction produced by extracellular receptor binding of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in the endothelial cells involved in angiogenesis. An inhibitor of VEGF-R2 receptor kinase can therefore block mitogenesis in endothelial cells, and will show selectivity (greater inhibition) compared to effects of other growth factors. An assay to measure this effect involves measurement of the inhibition of bromo-deoxy uridine (BrdU) incorporation (evidence of DNA synthesis) in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). Selectivity is demonstrated by comparison to the inhibition of BrdU incorporation prompted by basic Fibroblast Growth Factor (bFGF). These assays are described below.

20 HUVEC BrdU incorporationMaterials

HUVEC cells and EGM (Endothelial cell growth medium) were purchased from Clonetics (San Diego, CA). VEGF and bFGF were purchased from Genzyme. M199 medium (Gibco BRL) with BSA (Sigma) was used for cell culture in Type I collagen coated plates (Becton Dickinson).

25

477
~~477~~

The degree of BrdU incorporation was measured using a commercial colorimetric ELISA assay from Boehringer Mannheim.

Method

HUVECs were plated at a density of 2500 cells per well in M199 medium containing 5% FBS (Hyclone) in a Type-1 Collagen coated plate. The plate was incubated at 37°C overnight. The medium was removed by aspiration, and test compounds were added to each well in a volume of 0.1 ml per well in serum-free M199 medium. Compound concentrations ranged from 0.15 nM to 3.0 micromolar. The plate was incubated for 30 min at 37 °C. Another 0.1 ml of serum-free M199 medium containing BSA and VEGF (or bFGF) was added to give a final concentration of 0.1% BSA and 20 ng/ml VEGF (0.3 ng/ml bFGF). The plate was incubated at 37°C for 72 hrs. BrdU was added to each well after the first 48 hrs to give a concentration of 10 micromolar. The colorimetric ELISA assay was performed according to manufacturer's instructions, with detection by absorbance reading at 450 nm. Results were plotted as concentration of test compound vs. absorbance to give an IC₅₀ value for inhibition of BrdU incorporation.

Values of IC₅₀ inhibition for VEGF and bFGF by representative compounds are given in Table 8.

20

Table 8: Inhibition of BrdU incorporation in HUVEC cells		
Compound	VEGF stimulation	bFGF stimulation
Example 24	++++	+
Example 29	++++	+
Example 30	++++	++
Example 32	++++	++
Example 48	++++	+++
Example 55	++	+
Example 58	++++	++
Example 63	++++	+++
Example 66	+++	+
Example 71	++++	++++
Example 72	++++	++++

47B
~~478~~

Key (IC₅₀, μ M) 0.01-0.5: ++++
 0.6-1.0: +++
 1.1-5.0: ++
5 >5.0: +

UTILITY OF INVENTION

Inhibitors of VEGF-R2 kinase have utility as agents in the treatment of a wide variety of disorders which have a proliferative component dependent upon angiogenesis. These include, for example, cancers, arthritis, diabetic retinopathy, macular degeneration, and psoriasis.

The tumour inhibitory activity of the compounds of the present invention can be demonstrated in vivo, using Swiss Nu/Nu female mice in which mouse or human tumor cell lines have been implanted subcutaneously. Typical tumor types are the murine Lewis lung tumor and the human HT-29 colon carcinoma. In this assay, the compounds induce a marked reduction in the average tumour volume compared to vehicle treated controls.

The present invention demonstrates methodologies by which the process of angiogenesis induced by abnormal release of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) may be inhibited by treatment with inhibitors of VEGF-R2 receptor tyrosine kinase. Proliferative disorders and other disorders involving abnormal angiogenesis can therefore be treated.

When the compounds of the present invention are used in conjunction with chemotherapeutic agents or radiation therapy for cancer treatment, they provide a secondary means of suppressing tumor growth either when administered simultaneously with chemotherapeutic agents, or in an alternating regimen to suppress tumor growth between chemotherapeutic or radiation treatments.

While the invention has been described and illustrated with reference to certain preferred embodiments thereof, those skilled in the art will appreciate that various changes, modifications and substitutions can be

479
~~479~~

made therein without departing from the spirit and scope of the invention. For example, effective dosages other than the preferred dosages as set forth herein above may be applicable as a consequence of variations in the responsiveness of the mammal being treated for cancer conditions, or for
5 other indications for the compounds of the invention as indicated above. Likewise, the specific pharmacologic responses observed may vary according to and depending upon the particular active compound selected or whether there are present certain pharmaceutical carriers, as well as the type of formulation and mode of administration employed, and such
10 expected variations or differences in the results are contemplated in accordance with the objects and practices of the present invention. It is intended, therefore, that the invention be limited only by the scope of the claims which follow and that such claims be interpreted as broadly as is reasonable.

15

The application of which this description and claim(s) forms part may be used as a basis for priority in respect of any subsequent application. The claims of such subsequent application may be directed to any feature or combination of features described herein. They may take the form of
20 product, formulation, process or use claims and may include, by way of example and without limitation, one or more of the following claim(s):

480
480

utilización de un disolvente, tal como cloruro de metileno, dioxano, acetato de etilo o un éter.

La separación de un radical falilo se efectúa de modo preferido en presencia de hidrazina o de una amina primaria, tal como metil-amina, etil-amina o n-butil-amina, en el seno de un disolvente, tal como metanol, etanol, isopropanol, una mezcla de tolueno y agua o dioxano, a unas temperaturas comprendidas entre 20 y 50°C.

Además, compuestos quirales obtenidos de la fórmula general I se pueden separar en sus enantiómeros y/o diastereoisómeros.

Así, por ejemplo, los compuestos obtenidos de la fórmula general I, que aparecen en forma de racematos, se pueden separar de acuerdo con métodos en si conocidos (véase Allinger N.L. y Eliel E.L. en "Topics in Stereochemistry", volumen 6, Wiley Interscience, 1971) en sus antípodas ópticos, y compuestos de la fórmula general I, que tienen por lo menos 2 átomos de carbono asimétricos, se pueden separar, por causa de sus diferencias físicas y químicas de acuerdo con métodos en si conocidos, p.ej. por cromatografía y/o cristalización fraccionada, en sus diastereoisómeros, que, caso de que resulten en forma racémica, se pueden separar a continuación, tal como antes se ha mencionado, en los enantiómeros.

La separación en los enantiómeros se efectúa de modo preferido mediante separación en una columna en presencia de fases quirales o por recristalización a partir de un disolvente ópticamente activo o por reacción con una sustancia ópticamente activa, que forma con el compuesto racémico sales o derivados, tales como p.ej. ésteres o amidas, en particular ácidos y sus derivados activados o alcoholes, y por separación de la mezcla de sales o derivados diastereoisómeros/os que se han obtenido de esta manera, p.ej. por causa de diferentes solubilidades, realizándose que a partir de las sales o derivados diastereoisómeros/os puros/os se pueden poner en libertad los antípodas libres mediante acción de apropiados agentes. Ácidos ópticamente activos, especialmente habituales, son p.ej. las formas D y L de ácido tartárico, ácido dibenzoil-tartárico, ácido di-o-tolil-tartárico, ácido málico, ácido mandélico, ácido canfosulfónico, ácido glutámico, ácido N-acetil-glutámico, ácido aspártico, ácido N-acetil-aspártico o ácido quinoico. Como alcohol ópticamente activo entra en consideración por ejemplo (+)- o (-)-mentol y como radical acilo ópticamente activo en amidas entra en consideración por ejemplo el radical (+)- o (-)- mentiloxicarbonilo.

Además, los compuestos obtenidos de la fórmula I se pueden transformar en sus sales, en particular para la aplicación farmacéutica en sus sales fisiológicamente compatibles con ácidos inorgánicos u orgánicos. Como ácidos entran en consideración para ello, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido maleico o ácido metanosulfónico.

Además, los nuevos compuestos así obtenidos de la fórmula I, caso de que éstos contengan un grupo carboxi, se pueden transformar en caso deseado a continuación en sus sales con bases inorgánicas u orgánicas, en particular para la aplicación farmacéutica, en sus sales fisiológicamente compatibles. Como bases entran en consideración en este caso por ejemplo hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, ciclohexil-amina, etanol-amina, dietanol-amina y trietanol-amina.

Los compuestos de las fórmulas general I hasta VIII, utilizados como productos de partida, son parcialmente conocidos por la bibliografía, o éstos se obtienen de acuerdo con procedimientos conocidos por la bibliografía, o se describen en los Ejemplos.

Como ya se ha mencionado al comienzo, los nuevos compuestos de la fórmula general I, en los que R_1 representa un átomo de hidrógeno o un radical de profármaco, presentan valiosas propiedades farmacológicas, en particular un efecto inhibidor sobre diferentes cinasas, ante todo sobre complejos de CDK's (CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 y CDK9) con sus cinasas específicas (A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G1, G2, H, I y K), sobre una ciclina vírica (véase L. Mengtao en J. Virology 71 (3), 1984-1991 (1997)) y sobre tirosina-cinasas de receptores tales como HER2, EGFR, FGFR, IGF-IR y KDR, sobre la proliferación de células cultivadas de tumores humanos, así como, después de una toma por vía oral, sobre el crecimiento de tumores en ratones desprovistos de inmunidad ("desnudos"), que habían sido infectados con células tumorales humanas.

Por ejemplo, los compuestos que se exponen en la Tabla 1 se ensayaron en cuanto a sus propiedades biológicas de la siguiente manera:

481

Ensayo 1

Inhibición de la actividad de ciclinas y de la enzima CDK in vitro

- 5 Células de insectos High Five® (BTI-TN-5B1-4), que habían sido infectadas con un alto título de baculovirus recombinante, se utilizaron para la producción de holoenzimas de ciclina y CDK humanas activas. Por medio de la utilización de un vector de baculovirus, que contenía dos promotores (promotor intensificador de polihedrina, promotor intensificador de P10), se expresaron en la misma célula ciclinas marcadas con GST (p.ej. ciclina D1 o ciclina D3 con la correspondiente subunidad de CDK marcada con His₆ (p.ej. para CDK4 ó CDK6). La holoenzima activa fue aislada mediante cromatografía por afinidad en presencia de glutatión-Sepharose. La PRB marcada con GST recombinante (aa [aminoácidos] 379-928) fue producida en el seno de *E. coli* y purificada por cromatografía de afinidad en presencia de glutatión-Sepharose.
- 10
- 15 Los substratos, que se utilizaron para los análisis de cinasas, dependieron de las cinasas específicas. Se utilizó histona HI (Sigma), como sustrato para ciclina E/CDK2, ciclina A/CDK2, ciclina B/CDK1 y para v-ciclina/CDK6. Un pRB marcado con GST (aa 379-928) se utilizó como sustrato para ciclina D1/CDK4, ciclina D3/CDK4, ciclina D1/CDK6 y ciclina D3/CDK6.
- 20 Materiales lisados de las células de insectos infectadas con baculovirus recombinante, o también cinasas recombinantes (obtenidas a partir de los materiales lisados por purificación) se incubaron a 30°C durante 45 minutos conjuntamente con ATP marcado radiactivamente en presencia de un sustrato apropiado con diferentes concentraciones del agente inhibidor en una solución al 1% de DMSO (dimetil-sulfóxido). Las proteínas de sustrato, con radiactividad asociada, se precipitaron con TCA (ácido tricloroacético) al 5% en placas de microtitulación de múltiples pocillos con PVDF hidrófobo (de Millipore) o con una solución al 0,5% de ácido fosfórico sobre filtros Whatman P81. Después de haber añadido un líquido de escintilación se midió la radiactividad en un contador de escintilación en líquido Wallace 1450 Microbeta. Por cada concentración de la sustancia se llevaron a cabo mediciones dobles; y se calcularon los valores de IC₅₀ (concentración inhibidora del 50%) para la inhibición de las enzimas.
- 25
- 30

Ensayo 2

Inhibición de la proliferación de células cultivadas de tumores humanos

- 35 Células del linaje de células tumorales de leiomioma SK-UT-1B (obtenido de la American Type Culture Collection (ATCC)) se cultivaron en un Medio Esencial Mínimo con aminoácidos no esenciales (Gibco), complementado con piruvato de sodio (1 mmol), glutamina (2 mmol) y suero de bovino fetal al 10% (Gibco) y se cosecharon en la fase de crecimiento logarítmico. A continuación, las células SK-UT-1B se incorporaron en placas de múltiples pocillos Cytostar® (Amersham) con una densidad de 4.000 células por pocillo, y se incubaron durante una noche en una incubadora. Se añadieron a las células diferentes concentraciones de los compuestos (disueltos en DMSO; concentración final: <1%). Después de haber incubado durante 48 horas se añadió ¹⁴C-timidina (Amersham) a cada pocillo, y se incubó durante 24 horas adicionales. La cantidad de ¹⁴C-timidina, que se había incorporado en las células tumorales en presencia del agente inhibidor, y que representa el número de las células en la fase S, se midió en un contador de escintilación en líquido Wallace 1450 Microbeta. Los valores de IC₅₀ para la inhibición de la proliferación (= inhibición de la ¹⁴C-timidina incorporada) fueron calculados - mediando corrección para la radiación de fondo -. Todas las mediciones se realizaron en duplicado.
- 40
- 45

Ensayo 3

Efectos in vivo en ratones desprovistos de inmunidad, portadores de tumores

- 10⁶ células [SK-UT-1B, o células no pequeñas de tumor de pulmón NCI-H460 (obtenidas de ATCC)] en un volumen de 0,1 ml se inyectaron por vía subcutánea en ratones machos y/o hembras desprovistos de inmunidad (NMRI nu/nu; de 25 a 35 g; N = 10-20); alternativamente se implantaron por vía subcutánea pequeños trocitos de conglomerados de células SK-UT-1B o NCI-H 460. De una a tres semanas después de la inyección o de la implantación se aplicó un agente inhibidor de cinasas, diariamente por una duración de 2 a 4 semanas por vía oral (por sonda esofágica). El tamaño de los tumores se midió tres veces por semana con un pie de rey digital. El efecto de un agente inhibidor de cinasas sobre el crecimiento de tumores se determinó como inhibición porcentual en comparación con un grupo testigo tratado con un placebo.
- 55
- 60

482
482

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**

Radicación No. 05 16420

Clasificación Internacional (IPC): A 61 K ³¹/₄₀₄ // A 61 P ³⁵/₀₀

Concepto Técnico No. 3390

Patente de Invención ☒ Patente de Modelo de Utilidad ☐
Vía Nacional ☐
Vía PCT (fase nacional) ☒ Cap. I ☐ Cap. II ☒

Como resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el artículo 48 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

- 1.1. Descripción: Folios: 206 a 346
- 1.2. Reivindicaciones: Folios: 347 a 357
Folios: 197 a 205 Modificaciones no PCT
Folios: 404 a 407 Memorial de 06/04/2009
Folios: 446 a 449 Memorial de 17/08/2010
- 1.3. Datos PCT: Solicitud Internacional: PCT/EP03/007961
Capítulo II
Fecha Sol. Internacional: 22/07/2003
Publicación. Internacional: WO04/009547
Fecha Pub. Internacional: 29/01/2004
Fecha Inicio Fase Nacional: 23/02/2005
Fecha Sol. Nacional: 22/02/2005
- 1.4. Prioridad: DE 102 33 366.1 de 23/07/2002
DE 103 28 533.4 de 24/06/2003
- 1.5. Respuesta del solicitante: Folios: 399 a 407 Memorial de 06/04/2009
Folios: 436 a 449 Memorial de 17/08/2010

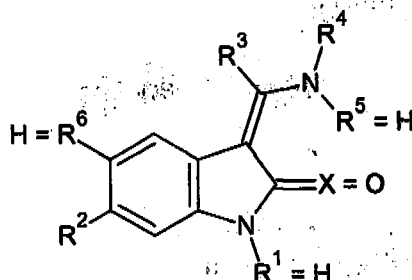
2. Objeto de la invención

Título de la solicitud (folio 401 Memorial 06/04/2009)

Derivados de indolinona sustituidos en posición 3, su preparación y su uso como medicamentos

Reivindicaciones

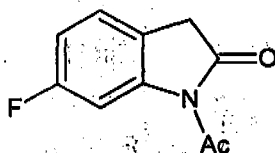
Reivindicaciones 1 a 5: Se reivindican compuestos de fórmula general:



Y sus sales fisiológicamente tolerables.

Reivindicación 6: Se reivindica un medicamento que contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I) o sus sales eventualmente junto con uno o múltiples vehículos portadores inertes y/o diluyentes.

Reivindicación 7: Se reivindica el compuesto intermediario para la manufactura de los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, de fórmula:



Sustento Descriptivo

La invención se refiere a derivados de indolinona sustituidos en posición 6 de fórmula general (I) que presentan actividad farmacológica importante frente a la inhibición de diversas quinasas como: VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FGFR1, FGFR3, EGFR, HER2, c-kit, IGF1R y HGFR, Flt-3, así como sobre la proliferación de células humanas cultivadas, en particular, células endoteliales en procesos como la angiogénesis, pero también la proliferación de células tumorales.

- Una vez catalogada la invención ésta se clasificó en la sección: **A 61 K³¹/404// A 61 P³⁵/00** de la **Clasificación Internacional de Patentes**.

3. Determinación del Estado de la Técnica

Considerando que la fecha de presentación de la primera solicitud de patente de la cual se reivindica prioridad es: 23/07/2002, se procedió a efectuar la búsqueda de documentos relacionados en el estado de la técnica con fecha de publicación anterior a ésta.

Nº	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	WO0018734 $\approx$ ES2196860	"Novel substituted indolinones with an inhibitory effect on various kinases and cyclin/CDK complexes"	06/04/2000
D2	WO0056710	"3-(anilinomethylene) oxindoles as protein tyrosine kinase and protein serine/threonine kinase inhibitors"	28/09/2000

Anterioridades D1 y D2 en los folios 408 a 421 y 450 a 481

4. Respuesta a los argumentos del señor solicitante:

Mediante memorial de fecha 17/08/2010 el señor solicitante argumenta lo siguiente:

- Frente a la novedad de la solicitud: "(...) inicialmente deseamos poner de presente que tal como lo afirma el Examinador en la Tabla 1 del oficio No. 4824, en el documento D1 el sustituyente R^3 representa un grupo fenilo o un grupo naftilo sustituido, mientras que en la presente invención el sustituyente R^3 , el cual se encuentra en el mismo lugar que en D1, representa un grupo fenilo sustituido por un carboxi-alquilo o un grupo alcoxi C_{1-4} -carbonil-alquilo C_{1-3} ".

Al respecto es preciso señalar que la publicación española ES2196860 perteneciente a la familia de publicaciones equivalentes del antecedente D1 (WO0018734), claramente establece que el radical R^3 de la estructura de fórmula (I) significa un grupo fenilo o naftilo y que en cada caso, puede estar mono o di sustituidos con átomos de flúor, cloro, bromo o yodo, o con grupos alquilo C_{1-3} , alcoxi C_{1-3} , carboxi, carboxi-alquenoilo C_{2-3} , N-(carboxi-alquilo C_{1-3}), pudiendo los sustituyentes ser iguales o diferentes. Y si bien es cierto, las connotaciones citadas por el señor solicitante dentro del nuevo de juego de reivindicaciones para el caso de R^3 no se encuentran totalmente divulgadas en D1: "fenilo sustituido con un grupo carboxi-alquilo C_{1-3} , o alcoxi C_{1-4} -carbonil-alquilo C_{1-3} ", si existen sustituyentes equivalentes, tal es el caso de: carboxi, alcanoil C_{2-4} -amino-alquilo C_{1-3} , carboxi-alquenoilo C_{2-3} , por lo que aun cuando se logra superar la objeción sobre la novedad de la invención, continua presentándose la falta de altura inventiva en virtud de las enseñanzas que divulga la publicación D1, como quiera que no existe evidencia técnica de la relación de causalidad entre la diferencia citada y el efecto farmacológico atribuido a los compuestos.

- Con respecto a las características estructurales de los compuestos divulgados en D1: "La anterioridad D1 contiene solo ejemplos en los cuales el grupo fenilo unido al átomo de carbono en la posición 8 se encuentra sustituido cuando la indolil-2-ona no se encuentra sustituida en ninguna de las posiciones 4 a 7 o cuando se encuentra sustituida solamente en la posición 5. De otro lado, en la presente invención la indolil-2-ona se encuentra siempre sustituida en la posición 6. Por lo tanto, el enfoque de D1 es sustancialmente diferente al enfoque de la presente invención, al menos en lo referente las características estructurales de los compuestos".

Frente al argumento del señor solicitante es preciso señalar que sobre la estructura de fenilo sólo existen 6 posiciones para sustituir y en el caso de la indolil-2-ona sólo existen siete posiciones para sustituir, por lo que no es claro cuál es la posición 8 a la que hace referencia el señor memorialista y la manera como está numerando los núcleos.

Ahora bien en lo que respecta a la configuración estructural de la fórmula revelada por el antecedente y su comparación con la fórmula reivindicada es evidente la cercanía química y funcional, así como la actividad atribuida, hecho éste que se manifiesta claramente con la valoración de los elementos que las definen:

Materia Reivindicada	Antecedente D1 (WO0018734)
	R₁ es H, alquilo C₁₋₃ R₂ es H, F, Cl, Br, alquilo C₁₋₃, grupo amino R₃ es fenilo o naftilo sustituido con átomos de flúor, cloro, bromo o yodo, o con grupos alquilo C₁₋₃, alcoxi C₁₋₃, carboxi, carboxi-alqueno C₂₋₃, N-(carboxi-alquilo C₁₋₃), pudiendo los sustituyentes ser iguales o diferentes. R₄ es H o un grupo alquilo C₁₋₃ R₅ puede ser elegido entre: un grupo alquilo C₁₋₃, fenilo o un grupo naftilo X es O, S
R² es F, Cl, Br, CN R³ es fenilo sustituido con un grupo carboxi-alquilo C₁₋₃ o alcoxi C₁₋₄-carbonil-alquilo C₁₋₃ R⁴ es fenilo o fenilo monosustituido	

- Con respecto a las enseñanzas de D2: "D2 difiere de la presente solicitud en lo que se refiere a X, R³ y R¹ de D2. De esta manera, el sustituyente X en D2 no puede ser sustituido por un grupo fenilo. Adicionalmente, el sustituyente R³ en D2 no representa un halógeno o un grupo ciano; y el sustituyente R¹ en D2 es un sustituyente diferente a un átomo de hidrógeno".

"(...) adicionalmente debido a que las enseñanzas del documento D1 no llenan el vacío de las diferencias estructurales que existen entre los compuestos de D2 y los de la presente invención, debido a que tal como se mencionó anteriormente, la anterioridad D1 no revela la posibilidad de que el sustituyente R₃ sea representado por un grupo fenilo sustituido, tal como se enseña en la presente solicitud".

Frente a los argumentos del señor solicitante esta Superintendencia se permite señalar que coincide en algunos aspectos, en especial, en lo que tiene que ver con el radical X de la fórmula revelada por la publicación D2. Sin embargo, en lo que respecta a los radicales R³ y R¹ difiere del señor solicitante como quiera que el radical R³ en D2 si puede ser un átomo de halógeno y R¹ puede ser -H, tal y como en el caso de la materia reivindicada.

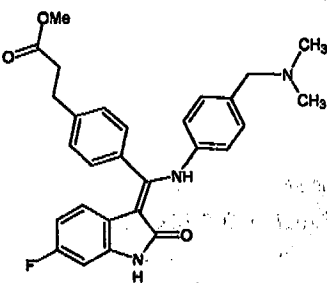
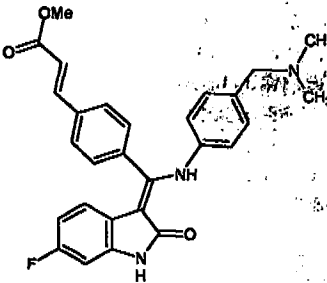
Materia Reivindicada	Antecedente D2 (WO0056710)

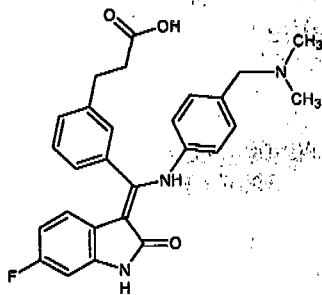
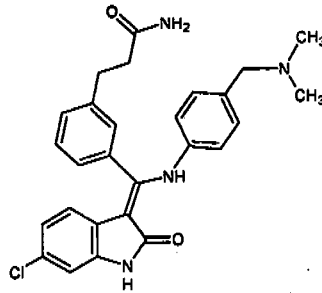
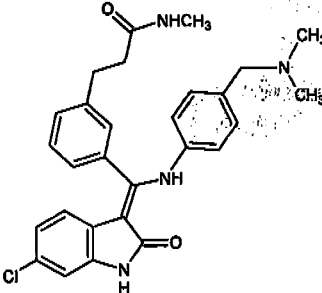
Materia Reivindicada	Antecedente D2 (WO0056710)
	Y, Z, A y D son elegidos de manera independiente entre N y C
	R ¹ es H, alquilo alifático C1-12, tior, hidroxi, arilo, Het
	R ² es H, alquilo C1-12, N-hidroxiimino-alquilo C1-12
R ² es F, Cl, Br, CN	R ³ es H, alquilo C1-12, hidroxi, dialquilo C1-12-amino
R ³ es fenilo sustituido con un grupo carboxi-alquilo C1-3 o alcoxi C1-4-carbonil-alquilo C1-3	X es N, CH, CCF ₃ , alquilo C1-12.
R ⁴ es fenilo o fenilo monosustituido	R ⁴ , R ⁵ , R ⁶ pueden ser iguales o diferentes y elegidos entre H, alquilo C1-12, tior, carboxamida, hidroxi, alquilo C1-12-amino-carbonil
	R ⁷ y R ⁸ son iguales o diferentes y se eligen de manera independiente entre H, halógeno, alcoxi C1-2, hidroxi, alquilo C1-3

Por otra parte y contrario a las afirmaciones del señor solicitante, las enseñanzas del documento D1 llenan el vacío de las diferencias estructurales que existen entre los compuestos de D2 porque D1 si revela la posibilidad de que el sustituyente R³ sea representado por un grupo fenilo sustituido, en especial por grupos como: carboxi-alquenilo C₂₋₄, como se logró comprobar en el acápite anterior.

- Con respecto al efecto inesperado: "(...) aunque en la presente solicitud en la página 27 línea 6 se afirma que los compuestos de la presente invención proveen acción inhibitoria sobre diversas tirosina quinasas, el objetivo de la presente solicitud es inhibir selectivamente la proliferación de células endoteliales involucradas en la angiogenesis (formación y crecimiento de los vasos sanguíneos) con el fin de tratar enfermedades tumorales mediante la minimización del suministro de sangre al tumor"

"Dichos compuestos muestran claramente una mayor diferencia de inhibición entre las quinasas CDK y VEGFR, tal como se muestra a continuación:

Compuesto	Inhibición VEGFR2 [nM]	Inhibición CDK4 [nM]
Ejemplo 6.3  3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(4-(2-metoxycarbonil-etil)-fenil)-metilen]-6-fluor-2-indolinona.	55	2600
Ejemplo 5.3  3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(4-(2-	120	2600

metoxycarbonil-vinil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona		
Ejemplo 10	88	>10000
 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(3-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona		
Ejemplo 11	110	>10000
 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(3-(2-carbamoil-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona		
Ejemplo 11.1	110	>10000
 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(3-(2-metilcarbamoil-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona		

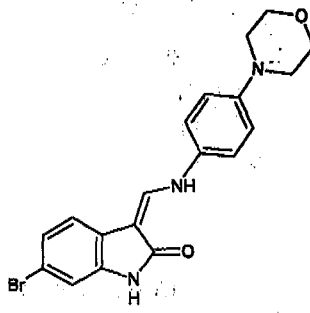
"Los resultados de la anterior Tabla muestran una inesperada y elevada selectividad de más de 20 veces entre la inhibición de VEGFR2 y CDK4 para los compuestos de la presente invención, proporcionando así un enfoque par la inhibición selectiva de la angiogénesis".

Las denominaciones comunes para el caso de los compuestos citados por el señor solicitante fueron tomados de los folios: 297, 295, 301, 312 y 313 para el caso de los ejemplos 6.3, 5.3, 10, 11 y 11.1.

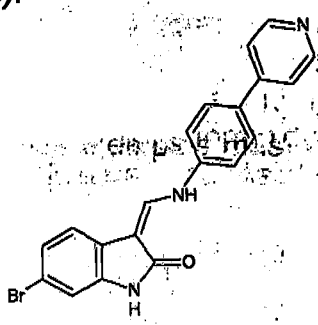
De esta manera, una vez estudiados los elementos técnicos estructurales que definen los compuestos reivindicados fue posible establecer que dentro de los antecedentes técnicos D1 y D2 se revela la misma actividad farmacológica para series análogas a la reivindicada, en la forma de inhibidores de las quinasas VEGFR. De hecho, el documento D2 se acompaña de los resultados de las pruebas de actividad y permite concluir que los derivados de la fórmula (I) allí divulgados se caracterizan porque son capaces de inhibir la actividad del receptor del factor de crecimiento vascular endotelial en rangos de concentración que oscilan entre 0,0001 y 1µM, esto es de 0.1nM hasta 1000nM. En particular, en los folios 475 y 476 del citado antecedente D2 se presentan los resultados de actividad farmacológica para el caso de los ejemplos 24, 29, 30, 32, 48, 55, 58, 63, 66, 71 y 72, los cuales claramente resultan más activos frente al receptor VEGR2 con concentraciones mínimas inhibitorias entre 1 y 10nM con respecto a IC₅₀ entre 11 y 100nM para el caso de las quinasas cíclicas CDK.

Por otra parte, dentro de los ejemplos más representativos divulgados en **D2** se encuentran los compuestos:

Ejemplo 1: 6-Bromo-3-((Z y E)-[4-(4-morfolinil)anilino]metiliden)-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (ver folio 469).



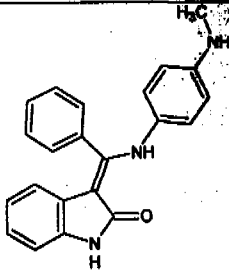
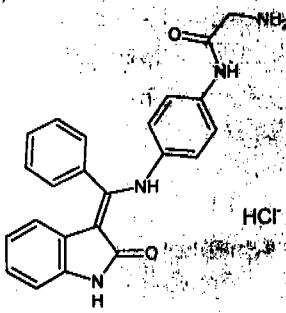
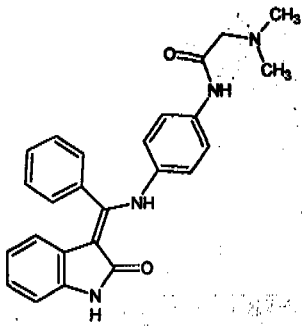
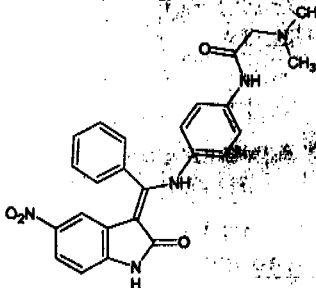
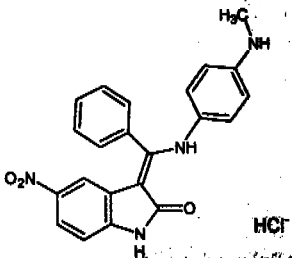
Ejemplo 2: 6-Bromo-3-((Z y E)-[4-(4-piridinilmetil)anilino]metiliden)-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (ver folio 470).

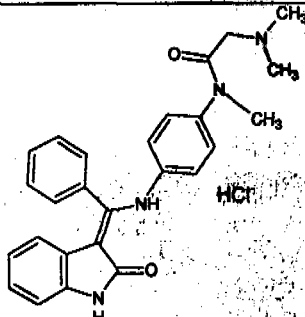
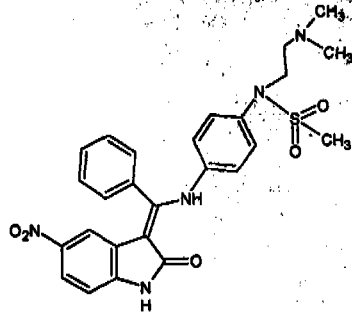
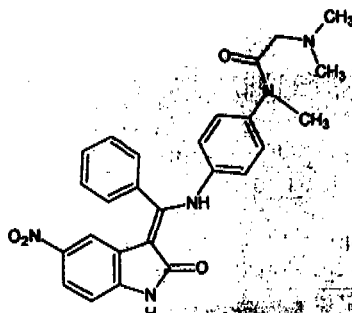
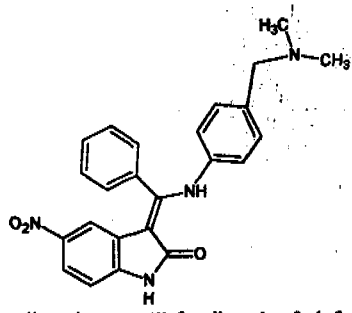
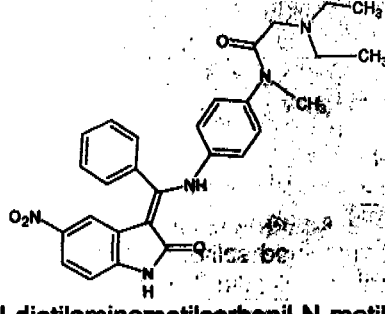


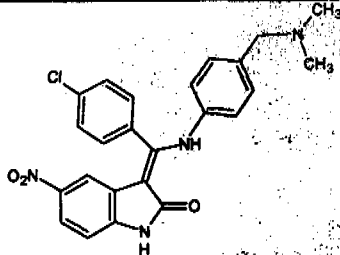
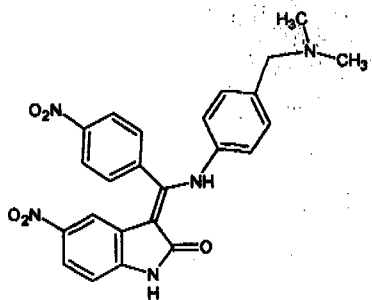
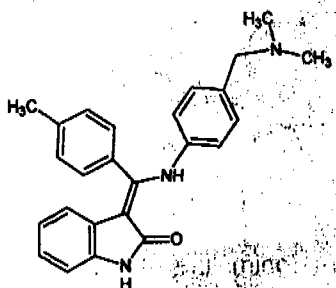
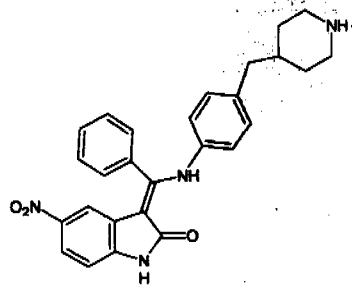
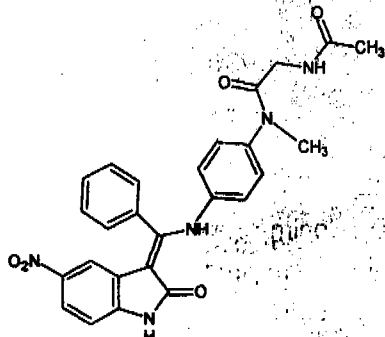
Y aún cuando evidentemente existen diferencias técnicas con respecto a la serie de estructuras reclamada por el señor solicitante y para la cual se aportaron los datos de actividad y concentración mínima inhibitoria IC₅₀ es importante reiterar que para esta Superintendencia es la combinación de los documentos **D1** y **D2** la que le permitiría a una persona normalmente versada en ciencias químicas y farmacéuticas anticipar los elementos funcionales y estructurales de los compuestos reivindicados, lo anterior, como quiera que en el antecedente **D1** no sólo se revelan compuestos estructuralmente similares a los definidos por el pliego reivindicatorio sino que se les atribuye capacidad para inhibir las series de quinasas cíclicas CDK, sus ciclinas específicas y otras de tipo HER2, VEGFR, FGFR, IGF-IR y KDR.

- Con respecto a la actividad farmacológica divulgada en la publicación **D1** el señor solicitante argumenta: “Los compuestos revelados en **D1** son inhibidores más potentes con respecto a CDK4 que a VEGFR2, tal como se muestra a continuación:

Compuesto	Inhibición VEGFR2 [nM]	Inhibición CDK4 [nM]
Ejemplo 149 (Z)-dihidro-trifluoroacetato de 3-[1-(4-aminometil-fenilamino)-1-(4-aminometil-fenil)-metiliden]-5-nitro-2-indolinona	790	36
Ejemplo 55	3700	170

 (Z)-3-[1-(4-aminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona		
Ejemplo 35  (Z)-hidrocloruro de 3-[1-(4-aminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona	6200	51
Ejemplo 41  (Z)-3-[1-(4-dimetilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-2-indolinona	6900	160
Ejemplo 94  (Z)-3-[1-(4-dimetilaminometilcarbonilamino-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona	4000	41
Ejemplo 114  (Z)-hidrocloruro de 3-[1-(4-aminometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona	4000	190
Ejemplo 48	500	76

 (Z)-hidrocloruro de 3-{1-[4-(N-dimetilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-2-indolinona Ejemplo 202		
 (Z)-3-{1-[4-(N-(2-dimetilamino-etil)-N-metilsulfonil-amino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 99	530	61
 (Z)-3-{1-[4-(N-dimetilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-1-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 99	2000	99
 (Z)-3-{1-[4-dimetilaminometil-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 117	1400	3,8
 (Z)-3-{1-[4-(N-dietilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-1-fenilamino]-1-fenil-metiliden}-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 100	180	93
Ejemplo 222	100000	430

 (Z)-3-[1-(4-dimetilaminometil-fenilamino)-1-(4-cloro-fenil)-metiliden]-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 220		
 (Z)-3-[1-(4-dimetilaminometil-fenilamino)-1-(4-nitro-fenil)-metiliden]-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 211	10000	230
 (Z)-3-[1-(4-dimetilaminometil-fenilamino)-1-(p-tolil)-metiliden]-2-indolinona Ejemplo 170	500	310
 (Z)-3-[1-(4-piperidinometil-fenilamino)-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona Ejemplo 140	140	0,6
 (Z)-3-[1-[4-(N-acetilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-fenilamino]-1-fenil-metiliden]-5-nitro-2-indolinona	2100	300

"Dado lo anterior, los compuestos de D1 proveen un efecto no selectivo antiproliferativo en todos los tipos de células, mientras que los compuestos del a presente solicitud muestran una selectividad alta de inhibición de más de 20 veces entre VEGFR2 y CDK4 (Ver Tabla 1) y en consecuencia, proporcionan un enfoque para la inhibición de la angiogénesis selectiva".

En lo que respecta a las afirmaciones del señor solicitante es preciso señalar que si bien en la publicación D1 no se menciona sobre la posible actividad selectiva y superior frente al receptor VEGFR por parte de los compuestos allí divulgados, resulta evidente y visible para cualquier persona versada en ciencias farmacéuticas que los compuestos comparten un buen número de elementos estructurales con aquellos que se reivindican por el señor solicitante. Tal es el caso de la sustitución en posición 3 del anillo de indolil-2-ona por un grupo metiliden que por una parte se encuentra sustituido por un grupo dimetilaminometil-anilina y por el otro por un anillo de fenilo sustituido y la única diferencia con respecto a los compuestos reclamados estriba en que la citada serie no incluye un átomo de halógeno sobre la posición 6 sino un grupo NO₂ en posición 5.

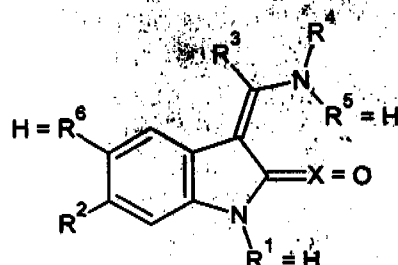
Y como se ha venido señalando en repetidas oportunidades no se puede evaluar un efecto farmacológico como el que pretende resaltar el señor solicitante sin evidenciar los elementos estructurales que diferencian la serie de compuestos reivindicada de las enseñanzas reveladas por el estado del arte, por lo que esta Superintendencia con base en la tabla que cita el señor solicitante en la respuesta allegada - de fecha 17/08/2010 - decidió dibujar las estructuras de los compuestos citados a fin de demostrar con claridad que la citada diferencia con respecto a la divulgación de D1, es decir, la no incorporación de un átomo de halógeno sobre la estructura anular de indolil-2-ona, no es la causa del efecto técnico indicado por el señor solicitante, toda vez que la serie de compuestos divulgada por la publicación D1 también presentan actividad inhibidora sobre las quinasas y si a esto se suma el hecho de que en la publicación D2 se presentan compuestos que incorporan un átomo de Bromo en la posición 6 del anillo de indolil-2-ona (*ver ejemplos 1 y 2 del antecedente D2*) y que su actividad farmacológica tiene que ver con la inhibición de quinasas de tipo VEGFR y CDK y que en particular la inhibición que allí se presenta es mayor en el caso de las quinasas VEGFR dado que se presentan IC₅₀ en el rango comprendido entre 0,1 nM y 100 nM (*ver datos biológicos de D2 del folio 471 líneas 15 a 21*), es posible concluir razonablemente que la suma de enseñanzas de las publicaciones D1 y D2 anticiparon los resultados que atribuye el señor solicitante a su investigación y por otra parte, el señor solicitante no logra demostrar: i) la existencia de un efecto técnico inesperado y ii) la existencia de una relación de causalidad entre las diferencias estructurales halladas y el efecto técnico, por lo que en tales circunstancias la conclusión continúa siendo la falta de altura inventiva de la materia reivindicada.

5. Análisis de patentabilidad (artículo 14 D. 486)

5.1 Nivel inventivo (artículo 18 D. 486)

El requisito de altura inventiva se evaluó por comparación entre los elementos característicos de los compuestos reivindicados y aquellos revelados por el estado del arte, empleando la aproximación problema-solución y a partir de las enseñanzas técnicas reveladas por los documentos D1 y D2.

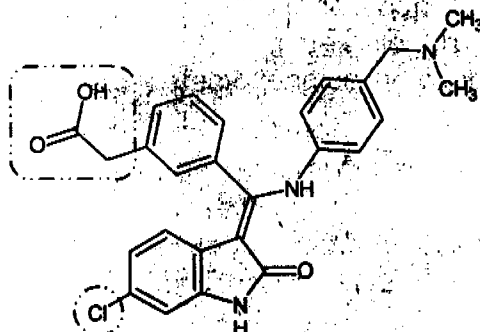
- Se reivindican compuestos de fórmula general (I):



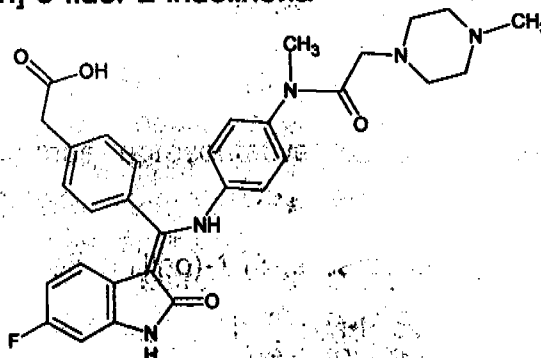
Y sus sales fisiológicamente tolerables.

Y dentro de las especies más representativas de la solicitud se reivindican en la cláusula 3 las siguientes:

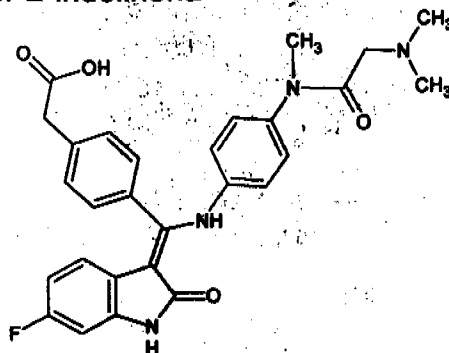
(a) 3-Z-[1-(4-dimetilaminometil-anilino)-1-(3-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-cloro-2-indolinona



(d) 3-Z-[1-(4-(N-4-metil-piperazin-1-il-metilcarbonyl)-N-metil-amino)-anilino-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona



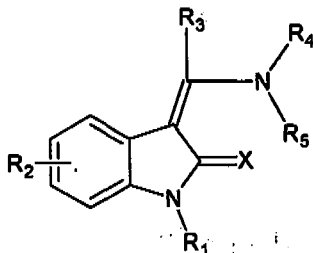
(h) 3-Z-[1-(4-(N-(dimetilamino)-metilcarbonyl)-N-metil-amino)-anilino-1-(4-(2-carboxi-etil)-fenil)-metilen]-6-flúor-2-indolinona



- El estado del arte más cercano a la invención se revela en la publicación D1:

Anterioridad D1:

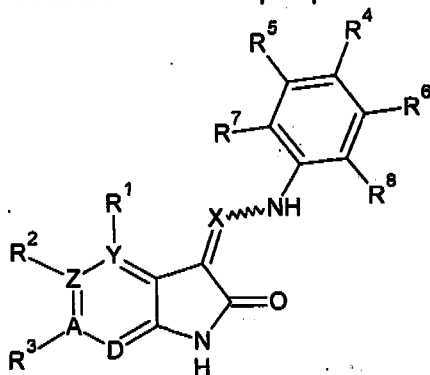
La publicación D1 revela estructuras que presentan el siguiente núcleo:



Los compuestos derivados del núcleo de fórmula (I) presentan actividad moduladora de los receptores de protein-tirosin quinasa, en particular de las quinasas cíclicas CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK6, CDK7, CDK8 y CDK9 y sobre el receptor de las protein quinasas EGFR, FGFR, IGF-1R y KDR.

Anterioridad D2:

La publicación D2 revela estructuras que presentan el siguiente núcleo:



Los compuestos derivados indolil-2-ona que enseña la publicación D2 presentan actividad como moduladores del receptor de protein tirosin-quinasa asociados al factor de crecimiento vascular endotelial VEGFR.

Tabla 1. Comparación técnica

Materia Reivindicada	Antecedente D1 (WO0018734)	Antecedente D2 (WO0056710)
	R ₁ es H, alquilo C ₁₋₃	Y, Z, A y D son elegidos de manera independiente entre N y C
	R ₂ es H, F, Cl, Br, alquilo C ₁₋₃ , grupo amino	R ¹ es H, alquilo alifático C ₁₋₁₂ , tiol, hidroxi, arilo, Het
	R ₃ es fenilo o naftilo sustituido con átomos de flúor, cloro, bromo o yodo, o con grupos alquilo C ₁₋₃ , alcoxi C ₁₋₃ , carboxi, carboxi-alquenilo C ₂₋₃ , N-	R ² es H, alquilo C ₁₋₁₂ , N-hidroxiimino-alquilo C ₁₋₁₂

Materia Reivindicada	Antecedente D1 (WO0018734)	Antecedente D2 (WO0056710)
	(carboxi-alquilo C ₁₋₃), pudiendo los sustituyentes ser iguales o diferentes.	
R ² es F, Cl, Br, CN	R ₄ es H o un grupo alquilo C ₁₋₃	R ³ es H, alquilo C ₁₋₁₂ , hidroxil, dialquilo C ₁₋₁₂ -amino
R ³ es fenilo sustituido con un grupo carboxi-alquilo C ₁₋₃ o alcoxi C ₁₋₄ -carbonil-alquilo C ₁₋₃	R ₅ puede ser elegido entre: un grupo alquilo C ₁₋₃ , fenilo o un grupo naftilo	X es N, CH, CCF ₃ , alquilo C ₁₋₁₂ .
R ⁴ es fenilo o fenilo monosustituido	X es O, S	R ⁴ , R ⁵ , R ⁶ pueden ser iguales o diferentes y elegidos entre H, alquilo C ₁₋₁₂ , tiol, carboxamida, hidroxil, alquilo C ₁₋₁₂ -amino-carbonil
		R ⁷ y R ⁸ son iguales o diferentes y se eligen de manera independiente entre H, halógeno, alcoxi C ₁₋₂ , hidroxil, alquilo C ₁₋₃

Análisis de Diferencias Técnicas:

Una vez efectuada la comparación técnica entre los elementos característicos de la materia reivindicada y aquellos revelados por el estado del arte en las publicaciones D1 y D2 fue posible establecer las siguientes diferencias técnicas:

Con respecto a D1 la diferencia estriba en que el grupo fenilo que sustituye el grupo metiliden no incorpora sustituciones tipo carboxi-alquilo o alcoxi C₁₋₄-carbonil-alquilo C₁₋₃. Sin embargo, en el citado antecedente se menciona que es posible que sean tipo carboxi-alqueno C₂₋₃ o eventualmente de tipo N-carboxi-alquilo C₁₋₃.

Con respecto a D2 las diferencias estriban en que allí no se contempla la posibilidad de incluir un anillo aromático como sustituyente del grupo alqueno de la posición 3 del anillo de indolil-2-ona. Sin embargo, los ejemplos 1 y 2 de la citada referencia revelan que las especies químicas pueden incluir en la posición 6 del anillo un átomo de halógeno tipo Br (ver folios 469 y 470 de D2).

Del problema técnico objetivo y del efecto inesperado:

De acuerdo con la memoria descriptiva de la solicitud se diseñan compuestos derivados de indolil-2-ona como alternativa terapéutica para el tratamiento de enfermedades mediadas por la actividad de las quinasas de tipo tirosin-quinasa, en particular, por la capacidad de los compuestos para inhibir los receptores de tirosin-quinasa tipo VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FGFR1, FGFR3, EGFR, HER2, c-kit, IGF1R y HGFR.

En consecuencia, el problema técnico objetivo subyacente a la invención estriba precisamente en diseñar compuestos que presenten actividad inhibidora de quinasas con mayor selectividad por el receptor del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR).

Al respecto es preciso señalar que para los compuestos revelados por los antecedentes D1 y D2 se ha atribuido actividad moduladora de los receptores de tirosin-quinasa. Pero en especial, para el caso de los derivados de indolil-2-ona revelados por el antecedente D1 se comprobó actividad moduladora de la actividad de las quinasas cíclicas (CDK), mientras que para el caso de las indolil-2-ona del antecedente D2 se precisa actividad inhibidora del receptor del factor de crecimiento endotelial VEGFR con mejores resultados en términos de IC₅₀ para el caso del citado factor, toda vez que los niveles de concentración requeridos para inhibir su actividad oscilan entre 0,1nM y 100nM.

En consecuencia, a partir de las enseñanzas que revelan en conjunto las publicaciones del estado del arte D1 y D2 es posible derivar los elementos característicos de los compuestos reivindicados y los resultados mejorados en términos de actividad, por lo que a los ojos de una persona versada en la materia resultarían obvias las modificaciones que se precisan para el núcleo de las indolil-2-onas con actividad anticancerígena.

Y por otra parte, el señor solicitante no logra comprobar un efecto técnico inesperado o sorprendente derivado de las diferencias citadas, toda vez que la publicación D2 señaló en su momento que para el caso del farmacóforo indolil-2-ona sustituida en posición 3 por un grupo anilino-metiliden, en estudio era evidente la selectividad y comportamiento superior frente a la quinasa VEGFR (*ver folios 471 a 479 de D2*) y en razón a esta situación no existe relación de causalidad alguna entre las diferencias citadas y el efecto farmacológico atribuido. Adicionalmente al combinar las enseñanzas de las publicaciones se superan las diferencias indicadas por el señor solicitante como se logró comprobar en la respuesta a sus argumentos mediante un análisis detallado de los elementos estructurales de los compuestos revelados en D1 y D2 y los hallazgos de actividad reportados por las citadas referencias.

Por las razones expuestas esta Dependencia reitera que la materia reivindicada carece de altura inventiva y por lo tanto, no cumple las disposiciones normativas señaladas por el artículo 18 de la Decisión comunitaria 486.

6. Conclusión:

En consecuencia y por todo lo expuesto anteriormente, se recomienda **Negar** las reivindicaciones: 1 a 7 (folios: 446 a 449)

Bogotá, D.C., 25/09/2010

CONCEPTO TÉCNICO No. 3390

EXAMINADOR TÉCNICO
Código No. 202044