



No. 12-122679- -00000-0000

Fecha: 2012-07-23 11:56:55 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 147



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO _____
COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLLINIL-PIRROLIDIN-2,5-
DIONA PURIFICADA Y METODOS DE PREPARARLAS Y
EMPLEARLAS

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE _____
ARQUILE, INC.

DOMICILIO _____
MASSACHUSETTS, WOBURN, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

74. APODERADO _____
C.C. 35.456.344 de Usaquén

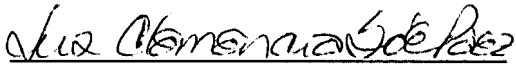
22. BOGOTÁ, D. C., _____

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-122679- -00000-0000 Fecha: 2012-07-23 11:56:55 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 147
---	--

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2010/061625	Fecha 2010/12/21
Publicación Internacional No.		WO 2011/079142 A3	Fecha 2011/06/30
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN		
COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLINIL-PIRROLIDIN-2,5-DIONA PURIFICADA Y MÉTODOS DE PREPARARLAS Y EMPLEARLAS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
A61K 031/417, A61P 035/000			
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
ARQULE, INC.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		19 Presidential Way	No. TELÉFONO 3 47 36 11
CIUDAD		Woburn 01801	CORREO ELECTRÓNICO clientes@cavelier.com
DEPARTAMENTO/ESTADO		Massachusetts	NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN
PAÍS DE RESIDENCIA		Estados Unidos de América	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. REED		DAVID P.	Estadounidense
2. BARNES		NEIL R.	Estadounidense
3. KANE		JOHN C.	Estadounidense
4. LEE		CHRISTOPHER A.	Estadounidense
5. CHEN		JIAN-XIE	Estadounidense
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1. Estados Unidos de América	Massachusetts	Salem 03079	276 Shore Drive,
2. Estados Unidos de América	Massachusetts	Melrose 02176	133 Lebanon Street,
3. Estados Unidos de América	New York	West Monroe 13167	24 Maplewood Drive,
4. Estados Unidos de América	New York	Freeville 13069	374 Ed Hill Road,
5. Estados Unidos de América	New York	Manlius 13104	7605 Rhinehart Circle,
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☒ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			

9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO			
APELLIDOS De Páez		NOMBRES Luz Clemencia	IDENTIFICACIÓN C.C . 35.456.344 T.P . 23.555	
DIRECCIÓN	Carrera 4ª No. 72-35		No. TELÉFONO	3 47 36 11
CIUDAD	BOGOTA		CORREO ELECTRÓNICO	cavelier@cavelier.com
PAÍS	COLOMBIA		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN U.S.A.		CÓDIGO PAÍS US	(31) NÚMERO 61/289,563	(32) FECHA (AAAA/MM/DD) 2009/12/23
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐				
Universidades públicas o privadas ☐				
Entidades sin ánimo de lucro ☐				
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO		No. <u>12-0071481</u> No. <u>12-0072864</u> No. <u>12-0066460</u> No. <u>12-0063607</u> No. <u>12-0071399</u> No. <u>12-0071400</u> No. <u>12-0055583</u> No. <u>12-0063672</u> No. <u>12-0063673</u> No. <u>12-0063674</u> No. <u>12-0063675</u> No. <u>12-0063676</u>	
		Fecha: <u>2012/07/13</u> Fecha: <u>2012/07/17</u> Fecha: <u>2012/07/03</u> Fecha: <u>2012/06/25</u> Fecha: <u>2012/07/13</u> Fecha: <u>2012/07/13</u> Fecha: <u>2012/06/04</u> Fecha: <u>2012/06/25</u> Fecha: <u>2012/06/25</u> Fecha: <u>2012/06/25</u> Fecha: <u>2012/06/25</u> Fecha: <u>2012/06/25</u>		

16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL <i>Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)</i>	
Nombre del Firmante LUZ CLEMENCIA DE PAEZ		Firma  ID=23555 155
C.C 35.456.344 de Usaquen		Tarjeta Profesional 23.555

JGG\SDC\ID-AF221849\WPC19500

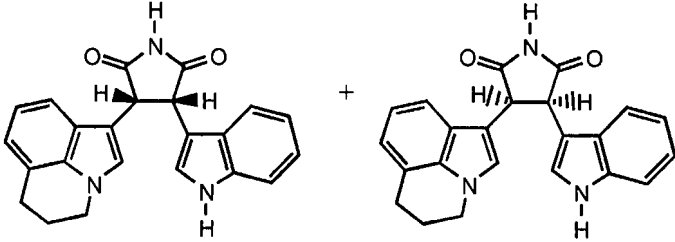
17	ANEXOS
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano 1. ☒ Descripción N° de folios: <u>91</u> 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: <u>78</u> 3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: <u>17</u> 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☒ Arte final 12 x 12. 8. ☐ Anexo formato digital.	Documentación Jurídica 9. ☐ Poderes, si fuera el caso. 10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. Reducción de tasas Micro, pequeñas o medinas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004. Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar 14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. 15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. 16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación. 17. ☒ Comprobante de pago por 68 reivindicaciones adicionales a 10, por valor de \$2.040.000.

HOJA DE INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD		NUMERO DE RADICACIÓN	
☐ Patente de invención			FECHA DE PRESENTACIÓN	
☐ Patente de Modelo de Utilidad				
4	(71) SOLICITANTE (S)			
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
2.				
3.				
4.				
5	DATOS DEL SOLICITANTE			
PAÍS DE RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
2.				
3.				
4.				
TELÉFONO		FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD
2.				
3.				
4.				
6	(72) INVENTOR (ES)			
APELLIDOS		NOMBRE	NACIONALIDAD	
6. REDMON		Martin P.	Estadounidense	
7	DATOS INVENTOR (ES)			
DIRECCIÓN		CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
6. 70 Old Howarth Road,		Oxford 01540	Massachusetts	Estados Unidos de América
9	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD			
PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	NÚMERO	FECHA (AAAA/MM/DD)
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

FIGURA CARACTERISTICA

(±)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4(1 H-indol-3-il) pirrolidin-2, 5-diona



(±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4(1 H -indol-3-il) pirrolidini-2, 5-diona.

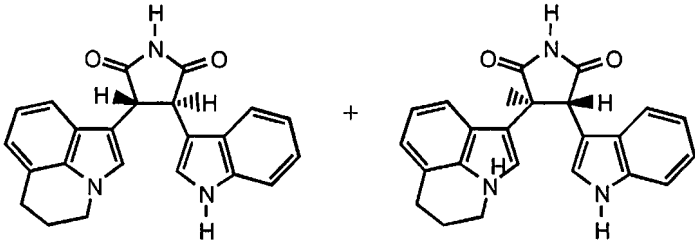


FIG. 1

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
30 June 2011 (30.06.2011)

(10) International Publication Number
WO 2011/079142 A3

- (51) International Patent Classification:
A61K 31/417 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2010/061625
- (22) International Filing Date:
21 December 2010 (21.12.2010)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
61/289,563 23 December 2009 (23.12.2009) US
- (63) Related by continuation (CON) or continuation-in-part (CIP) to earlier application:
US 61/289,563 (CON)
Filed on 23 December 2009 (23.12.2009)
- (71) Applicant (for all designated States except US): AR-
QULE, INC. [US/US]; 19 Presidential Way, Woburn,
MA 01801 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): REED, David, P.
[US/US]; 276 Shore Drive, Salem, MA 03079 (US).
BARNES, Neil, R. [US/US]; 133 Lebanon Street, Mel-
rose, MA 02176 (US). KANE, John, C. [US/US]; 24
Maplewood Drive, West Monroe, NY 13167 (US). LEE,

Christopher, A. [US/US]; 374 Ed Hill Road, Freeville,
NY 13069 (US). CHEN, Jian-xie [US/US]; 7605 Rhine-
hart Circle, Manlius, NY 13104 (US). REDMON, Mar-
tin, P. [US/US]; 70 Old Howarth Road, Oxford, MA
01540 (US).

(74) Agents: ELRIFI, Ivor, R. et al.; MINTZ LEVIN COHN
FERRIS GLOVSKY AND POPEO, P.C., One Financial
Center, Boston, MA 02111 (US).

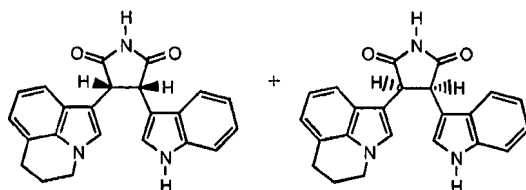
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

[Continued on next page]

(54) Title: PURIFIED PYRROLOQUINOLINYL-PYRROLIDINE-2,5-DIONE COMPOSITIONS AND METHODS FOR
PREPARING AND USING SAME

(±)-cis-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl)
pyrrolidine-2, 5-dione



(±)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione.

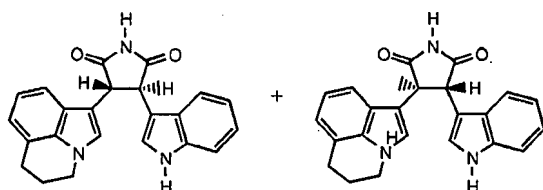


FIG. 1

(57) Abstract: The present invention relates to a form 1 and form 2 polymorph of (-)-trans -3 -(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione. The present invention also relates to (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione compounds having a chiral purity greater than 99%, and methods of preparation of these compounds. The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising these (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione compounds. The present invention provides methods of treating a cell proliferative disorder, such as a cancer, by administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of a composition comprising (-)-trans- 3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione having a chiral purity greater than 99% or a form 1 and form 2 polymorph of (-)-trans -3 -(5,6- dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione.

WO 2011/079142 A3



SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments (Rule 48.2(h))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(88) Date of publication of the international search report:

24 November 2011

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
30 June 2011 (30.06.2011)



(10) International Publication Number
WO 2011/079142 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 31/417 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2010/061625

(22) International Filing Date:
21 December 2010 (21.12.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/289,563 23 December 2009 (23.12.2009) US

(63) Related by continuation (CON) or continuation-in-part (CIP) to earlier application:
US 61/289,563 (CON)
Filed on 23 December 2009 (23.12.2009)

(71) Applicant (for all designated States except US): AR-
QULE, INC. [US/US]; 19 Presidential Way, Woburn,
MA 01801 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): REED, David, P.
[US/US]; 276 Shore Drive, Salem, MA 03079 (US).
BARNES, Neil, R. [US/US]; 133 Lebanon Street, Mel-
rose, MA 02176 (US). KANE, John, C. [US/US]; 24
Maplewood Drive, West Monroe, NY 13167 (US). LEE,

Christopher, A. [US/US]; 374 Ed Hill Road, Freeville,
NY 13069 (US). CHEN, Jian-xie [US/US]; 7605 Rhine-
hart Circle, Manlius, NY 13104 (US). REDMON, Mar-
tin, P. [US/US]; 70 Old Howarth Road, Oxford, MA
01540 (US).

(74) Agents: ELRIFI, Ivor, R. et al.; MINTZ LEVIN COHN
FERRIS GLOVSKY AND POPEO, P.C., One Financial
Center, Boston, MA 02111 (US).

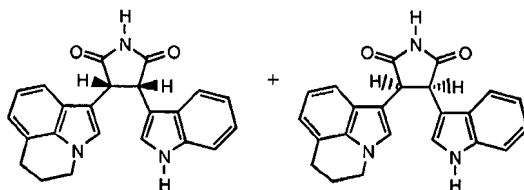
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

[Continued on next page]

(54) Title: PURIFIED PYRROLOQUINOLINYL-PYRROLIDINE-2,5-DIONE COMPOSITIONS AND METHODS FOR
PREPARING AND USING SAME

(±)-cis-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl)
pyrrolidine-2, 5-dione



(±)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij]
quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione.

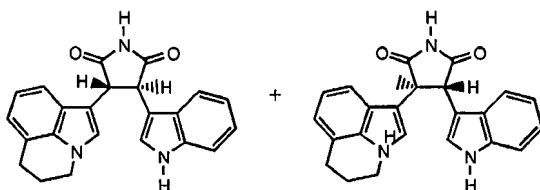


FIG. 1

(57) Abstract: The present invention relates to a form 1 and form 2 polymorph of (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione. The present invention also relates to (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione compounds having a chiral purity greater than 99%, and methods of preparation of these compounds. The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising these (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione compounds. The present invention provides methods of treating a cell proliferative disorder, such as a cancer, by administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of a composition comprising (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione having a chiral purity greater than 99% or a form 1 and form 2 polymorph of (-)-trans-3-(5,6-dihydro-4H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinolin-1-yl)-4-(1H-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione.

WO 2011/079142 A2

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, **Published:**
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
— *without international search report and to be republished
upon receipt of that report (Rule 48.2(g))*

COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLINIL-PIRROLIDIN-2,5-DIONA PURIFICADA Y MÉTODOS DE PREPARARLAS Y EMPLEARLAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reclama prioridad a, y el beneficio de, la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/289,563, presentada el 23 de diciembre de 2009. Esta solicitud se incorpora en esta especificación por referencia en su totalidad.

ARTE PREVIO DE LA INVENCION

El cáncer es la segunda causa principal de muerte en los Estados Unidos, superada únicamente por la cardiopatía. (*Cancer Facts and Figures 2004*, American Cancer Society, Inc.) A pesar de los recientes avances en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, la cirugía y la radioterapia pueden ser curativas si el cáncer se detecta a tiempo, pero las actuales terapias con fármacos para la enfermedad metastásica son en su mayor parte paliativas y, rara vez, ofrecen una cura a largo plazo. Incluso con las nuevas quimioterapias que ingresan al mercado, subsiste la necesidad de nuevos fármacos efectivos en monoterapia o en combinación con agentes existentes como terapia de primera línea, y como terapias de segunda y tercera línea en el tratamiento de tumores resistentes.

Las células cancerígenas ("**cancer cells**") son por definición heterogéneas. Por ejemplo, en un solo tejido o tipo de células, múltiples "mecanismos" mutacionales pueden conducir al desarrollo de cáncer. Como tales, con frecuencia existe heterogeneidad entre células cancerígenas extraídas de tumores del mismo tejido y el mismo tipo que se han originado en diferentes individuos. "Mecanismos" mutacionales frecuentemente observados, asociados con algunos cánceres pueden diferir entre un tipo de tejido y otro (v.g., "mecanismos" mutacionales frecuentemente observados que conducen a cáncer de colon pueden diferir de "mecanismos" mutacionales frecuentemente observados que conducen a leucemias). Por consiguiente, a menudo es difícil predecir si un cáncer particular responderá a un agente quimioterapéutico particular. (*Cancer Medicine*, 5th edition, Bast *et al.*, B.C. Decker Inc., Hamilton, Ontario).

Componentes de las vías de transducción de señales celulares que regulan el crecimiento y diferenciación de células normales, cuando se desregulan, pueden conducir al desarrollo de trastornos proliferativos celulares y cáncer. Mutaciones en proteínas de señalización celular pueden hacer que tales proteínas se expresen o activen en niveles inapropiados o en momentos inapropiados

13

durante el ciclo celular lo que, a su vez, puede llevar a un crecimiento celular incontrolado o cambios en las propiedades de adhesión célula a célula. Por ejemplo, la desregulación de tirosina cinasas de receptor por mutación, reordenamiento de genes, amplificación génica y sobreexpresión tanto de receptor como de ligando han estado implicados en el desarrollo y evolución de cánceres humanos.

La tirosina cinasa de receptor c-Met es el único receptor de alta afinidad conocido para el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF - *hepatocyte growth factor*), también conocido como factor de dispersión. La unión del HGF al dominio de unión de ligando extracelular c-Met tiene como resultado la multimerización del receptor y la fosforilación de múltiples residuos de tirosina en la porción intracelular de c-Met. La activación de c-Met se traduce en la unión y fosforilación de proteínas adaptadoras tales como Gab-1, Grb-2, Shc, y c-Cbl, y la subsiguiente activación de transductores de señales tales como PI3K, PLC- γ , STATs, ERK1 y 2 y FAK. c-Met y HGF se expresan en numerosos tejidos, y su expresión se restringe por lo general predominantemente a las células de origen epitelial y mesenquimatoso, respectivamente. c-Met y HGF se encuentran desregulados en cánceres humanos y pueden contribuir a la desregulación del crecimiento celular, diseminación de células tumorales, e invasión del tumor durante la evolución de la enfermedad y la metástasis (véase, v.g., *Journal of Clinical Investigation* 109: 863-867 (2002) y *Cancer Cell* páginas 5-6, julio de 2004). c-Met y HGF se encuentran altamente expresados en relación con el tejido circundante en numerosos cánceres, y su expresión se correlaciona con un diagnóstico deficiente y la falta de respuesta a tratamientos clínicos estándar. (Véase, v.g., *Journal of Cellular Biochemistry* 86: 665-677 (2002); *Int. J Cancer (Pred. Oncol.)* 74: 301-309 (1997); *Clinical Cancer Research* 9: 1480-1488 (2003); y *Cancer Research* 62: 589-596 (2002)). Sin pretender quedar limitados por alguna teoría, c-Met y HGF pueden proteger los tumores contra la muerte celular inducida por agentes que dañan el ADN y, como tales, pueden contribuir a la quimiorresistencia y radorresistencia de los tumores. Sin pretender quedar limitados por alguna teoría, los inhibidores de c-Met pueden ser útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de trastornos proliferativos, incluyendo cáncer de mama. (Véase, v.g., *Cancer and Metastasis Reviews* 22: 309-325 (2003)). Por consiguiente, se requieren nuevos compuestos y métodos para modular estos factores y tratar cáncer. La presente invención aborda estas necesidades.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-

(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka. En algunas modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8, 14.1, 15.5, 17.8, 19.9 y 25.6 °2θ empleando radiación Cu Ka. En otras modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8, 14.1, 14.9, 15.5, 17.1, 17.8, 19.4, 19.9, 21.1, 21.9, 23.0, 25.6 y 28.4 °2θ empleando radiación Cu Ka.

La presente invención proporciona además un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka. En algunas modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9, 12.0, 16.7, 20.1 y 22.8 °2θ empleando radiación Cu Ka. En otras modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9, 12.0, 13.2, 16.4, 16.7, 17.2, 20.1, 20.3, 20.8, 22.8, 23.7, 28.6 y 30.4 °2θ empleando radiación Cu Ka.

La presente invención proporciona asimismo una (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano y una composición que contiene (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano. La composición puede contener más de 90%, más de 95% o más de 99% de (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano.

La presente invención proporciona también una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) . pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina o una composición que contiene (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina. La composición puede contener más de 90%, más de 95% o más de 99% de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina. En algunas modalidades, la composición puede contener menos de 1%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-

2,5-diona pseudoefedrina.

La presente invención proporciona además una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona purificada quiralmemente que contiene menos de 1%, menos de 0,7%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

La presente invención ofrece asimismo un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que comprende: (a) mezclar ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con (1*S*,2*S*)-(+)-pseudoefedrina en un primer solvente para formar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-pseudoefedrina sólida; (b) lavar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-pseudoefedrina sólida formada en el paso (a) con una mezcla acuosa del primer solvente; (c) hacer reaccionar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-pseudoefedrina del paso (b) con un ácido en un solvente orgánico y aislar la capa orgánica de la solución resultante; (d) lavar la capa orgánica del paso (c); (e) agregar un segundo solvente a la capa orgánica; (f) concentrar la capa orgánica hasta que la cantidad del segundo solvente en la solución es menos de 5%; y (g) cristalizar a partir de la capa orgánica en el paso (f) y secar la solución de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona resultante bajo vacío, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Preferiblemente, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1%, menos de 0,7%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

El primer solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el primer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, ciclohexiletilamina, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores. El segundo solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el segundo solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores. En algunas modalidades, el segundo solvente es el mismo que el citado primer solvente. En otras modalidades, el segundo solvente es diferente del citado primer solvente. El solvente orgánico en el paso (c) puede ser metiltetrahidrofurano. En algunas

modalidades, la capa orgánica se lava con una solución salina en el paso (d). Preferiblemente, la solución salina es una solución de cloruro de sodio.

El método puede incluir además lavar el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona luego del paso (g). En algunas modalidades, el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se lava con un alcohol. Preferiblemente, el alcohol se selecciona de etanol y metanol.

La presente invención proporciona asimismo un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que comprende (a) mezclar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*, 2*S*)-(+)-pseudoefedrina y un ácido; (b) agregar un alcohol a la mezcla de (a) para formar una lechada; (c) calentar y agitar la lechada formada en (b); (d) enfriar y aislar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona; (e) lavar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona aislada en el paso (d) con un primer solvente; (f) disolver (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona del paso (e) en un segundo solvente para formar una solución; (g) agregar un tercer solvente a la solución en (f) y destilar la solución hasta que la cantidad del citado segundo solvente en la solución es menos de 5%; (h) cristalizar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona a partir de la solución en (g); (i) opcionalmente, agregar un cuarto solvente (preferiblemente agua) para madurar los cristales de (h); (j) aislar los cristales de (i) mediante filtración; (k) lavar los cristales de (j) con una mezcla del tercer solvente y el cuarto solvente; y (l) secar los cristales de (k) bajo vacío, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Preferiblemente, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1%, menos de 0,7%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

El alcohol puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El primer solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el primer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El segundo solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el segundo solvente no acuoso es tetrahidrofurano. El tercer solvente puede ser un solvente

no acuoso. Preferiblemente, el tercer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores.

La presente invención proporciona además un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que comprende: (a) disolver (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona en diclorometano y aislar la (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano; (b) disolver (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano en un primer solvente; (c) destilar la solución del paso (b) hasta que el nivel de diclorometano en la solución es < 0.1 % en peso; (d) diluir la solución del paso (c) en un segundo solvente; (e) introducir la solución del paso (d) en un sistema de cromatografía multicolumna que contiene un empaquetado apropiado para separación quiral; (f) agrupar los residuos de refinado resultantes obtenidos del sistema en el paso (e); y (g) cristalizar los residuos de refinado del paso (f) y filtrar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona resultante o evaporar los residuos de refinado del paso (f) a sequedad, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Preferiblemente, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1%, menos de 0,7%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Preferiblemente, el primer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El segundo solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el segundo solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores. Más preferiblemente, el segundo solvente no acuoso es una mezcla de metanol y acetonitrilo.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos empleados en esta especificación tienen el mismo significado como se entiende comúnmente por una persona de versación ordinaria en el arte al cual pertenece la invención. En la especificación, las formas del singular incluyen asimismo el plural, salvo que el contexto dicte claramente otra cosa. Aunque métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta especificación pueden emplearse en la práctica o las pruebas de la presente invención, más adelante se describen métodos y materiales apropiados. Todas las publicaciones, solicitudes

de patente, patentes, y demás referencias mencionadas en esta especificación se incorporan por referencia. No se admite que las referencias citadas en esta especificación constituyan arte previo a la invención reivindicada. En el caso de conflicto, prevalecerá la presente especificación, incluyendo las definiciones. Adicionalmente, los materiales, métodos y ejemplos son ilustrativos únicamente y no pretenden ser limitantes.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1 presenta las estructuras químicas de ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 2 presenta un efecto de ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona o ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona sobre la supervivencia de células MDA-MB-231 o Paca-2 *in vitro*.

Figura 3 presenta un efecto de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona o (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona sobre la supervivencia de células MDA-MB-231 *in vitro*.

Figura 4 presenta un efecto de ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona o ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona sobre la actividad de la proteína cinasa C *in vitro*.

Figura 5, Panel A presenta la inhibición de la autofosforilación de c-Met por (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona; Panel B presenta la inhibición de la fosforilación de c-Met inducida por (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona o (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 6 presenta un efecto de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*]

quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona para inducir apoptosis en células cancerígenas.

Figura 7 presenta un efecto de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona para inhibir la invasión metastásica de células cancerígenas.

Figura 8 presenta un efecto de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona en un modelo de xenoinjerto de cáncer de mama.

Figura 9 presenta un efecto de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona en un modelo de xenoinjerto de cáncer de colon humano (Panel A), modelo de xenoinjerto de cáncer de páncreas humano (Panel B), modelo de xenoinjerto de cáncer de próstata humano (Panel C), y modelo de xenoinjerto de cáncer de gástrico humano (Panel D).

Figura 10 presenta la sensibilidad citotóxica de múltiples líneas celulares a (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 11 presenta la reducción en la cantidad de c-Met fosforilado en muestras histopatológicas tratadas con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona por inmunohistoquímica (Panel A) o mediante transferencia Western (Panel B).

Figura 12, Panel A presenta el patrón XRPD del polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona; Panel B presenta valores 2θ típicos del patrón XRPD del polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 13, Panel A presenta el patrón XRPD del polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona; Panel B presenta valores 2θ típicos del patrón XRPD del polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 14 presenta gráficos que comparan los patrones XRPD de los polimorfos de formas 1 y 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-

il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 15 Paneles A y B presentan gráficos que muestran los espectros IR de las formas 1 y 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Figura 16 presenta gráficos que muestran el comportamiento térmico (fusión) de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, formas 1 y 2.

Figura 17, Paneles A y B presentan gráficos que muestran la solubilidad y la disolución intrínseca de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, formas 1 y 2, ilustradas como formas B y A, respectivamente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Compuestos de Pirroloquinolinil-Pirrolidini-2,5-Diona

La presente invención proporciona (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

La presente invención proporciona además una composición que contiene (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. La composición puede contener uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Preferiblemente, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona altamente purificada, proporcionada por la presente invención, tiene una pureza quiral de más de 99,3%, más de 99,5%, más de 99,6%, más de 99,7%, más de 99,8% o más de 99,9%. Preferiblemente, las composiciones que contienen (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona altamente purificada, proporcionada por la presente invención, contienen menos de 0,7%, menos de 0,5%, menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Se contemplan todas las formas de los compuestos de la presente invención, ya sea en mezcla o en forma pura o sustancialmente pura, incluyendo las formas cristalinas de mezclas racémicas y las formas cristalinas de isómeros individuales. Muy particularmente, la invención abarca isómeros ópticos aislados que tienen una actividad especificada. Las formas racémicas pueden resolverse por métodos físicos, tales como, por ejemplo, separación o cristalización de derivados diastereoméricos, separación por cromatografía de columna quiral o cromatografía de fluidos supercríticos. Los isómeros ópticos individuales pueden obtenerse de los racematos por métodos convencionales, tales como, por ejemplo, formación de sales con un ácido o base ópticamente activos, seguida por cristalización.

Ciertos compuestos de esta invención pueden existir en formas tautoméricas. Se considera que todas las formas tautoméricas similares de los compuestos están dentro del ámbito de esta invención, a menos que se especifique lo contrario.

Además, puede estar presente un polimorfismo de cristal, si bien no es limitante, pero cualquier forma de cristal puede ser única o una mezcla de formas de cristal, o una forma de cristal anhidra o hidratada.

Los términos "polimorfos de cristal " o "polimorfos" o "formas de cristal" significan estructuras de cristal en las cuales un compuesto (o su sal o solvato) puede cristalizar en diferentes ordenamientos de empaquetamiento del cristal, todos los cuales tienen la misma composición elemental. Formas de cristal diferentes tienen usualmente diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, densidad, forma del cristal, y propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. El solvente de cristalización, el índice de cristalización, la temperatura de almacenamiento, y otros factores pueden hacer que predomine una forma de cristal. Los polimorfos de cristal de los compuestos pueden prepararse por cristalización bajo diferentes condiciones.

La presente invención proporciona dos polimorfos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka. En algunas modalidades, el polimorfo

puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8, 14.1, 15.5, 17.8, 19.9 y 25.6 °2θ empleando radiación Cu Ka. En otras modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8, 14.1, 14.9, 15.5, 17.1, 17.8, 19.4, 19.9, 21.1, 21.9, 23.0, 25.6 y 28.4 °2θ empleando radiación Cu Ka.

La presente invención proporciona además un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka. En algunas modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9, 12.0, 16.7, 20.1 y 22.8 °2θ empleando radiación Cu Ka. En otras modalidades, el polimorfo puede caracterizarse igualmente por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9, 12.0, 13.2, 16.4, 16.7, 17.2, 20.1, 20.3, 20.8, 22.8, 23.7, 28.6 y 30.4 °2θ empleando radiación Cu Ka.

La presente invención proporciona igualmente una composición que contiene el polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka. La composición puede contener uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona asimismo una composición que contiene el polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka. La composición puede contener uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, por ejemplo, las sales de los compuestos, pueden existir ya sea en forma hidratada o deshidratada (anhidra) o como solvatos con otras moléculas de solvente. Ejemplos no limitantes de hidratos incluyen monohidratos, dihidratos, etc. Ejemplos no limitantes de solvatos incluyen solvatos de etanol, solvatos de acetona, etc.

La presente invención proporciona además una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-

pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina puede contener menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-seudoefedrina.

La presente invención proporciona de igual manera una composición que contiene (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona seudoefedrina. La composición puede contener uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Preferiblemente, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina altamente purificada, proporcionada por la presente invención, tiene una pureza diastereomérica de más de 99,5%, más de 99,6%, más de 99,7%, más de 99,8% o más de 99,9%. Preferiblemente, las composiciones que contienen la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina altamente purificada, proporcionada por la presente invención, contienen menos de 0,5%, menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona seudoefedrina.

"Solvatos" significa formas de adición de solvente que contienen ya sea cantidades estequiométricas o no estequiométricas de solvente. Algunos compuestos tienen una tendencia a atrapar una relación molar fija de moléculas de solvente en el estado sólido cristalino, formando así un solvato. Si el solvente es agua, el solvato formado es un hidrato; cuando el solvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una de las sustancias en las cuales el agua conserva su estado molecular como H₂O, siendo tal combinación capaz de formar uno o más hidratos. Por ejemplo, el solvato puede ser un solvato de diclorometano (DCM).

La presente invención proporciona de igual manera una (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano y una composición que contiene (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano. La

composición puede contener más de 90%, más de 95% o más de 99% de ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano. La composición puede contener uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en una forma tautomérica, las cuales se pretende abarcar igualmente dentro del ámbito de la presente invención. "Tautómeros" se refiere a compuestos cuyas estructuras difieren notoriamente en el ordenamiento de átomos, pero que pueden existir en un equilibrio fácil y rápido. Hay que entender que los compuestos de la invención pueden describirse como tautómeros diferentes. Debe entenderse asimismo que cuando los compuestos tienen formas tautoméricas, se pretende que todas las formas tautoméricas estén dentro del ámbito de la invención, y la denominación de los compuestos no excluye ninguna forma tautomérica.

Los compuestos, sales y profármacos de la presente invención pueden existir en varias formas tautoméricas, y tales formas tautoméricas se incluyen dentro del ámbito de la presente invención. Los tautómeros existen como mezclas de un conjunto tautomérico en solución. En forma sólida, usualmente predomina un tautómero. Aun cuando puede describirse un tautómero, la presente invención incluye todos los tautómeros de los presentes compuestos.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "sal" es una sal farmacéuticamente aceptable y puede incluir sales de adición de ácido, incluyendo clorhidratos, hidrobromuros, fosfatos, sulfatos, sulfatos hidrogenados, alquilsulfonatos, arilsulfonatos, acetatos, benzoatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, lactatos, y tartratos; cationes de metal alcalino tales como Na⁺, K⁺, Li⁺, sales de metal alcalinotérreo tales como Mg²⁺ o Ca²⁺, o sales de amina orgánica.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "metabolito" significa un producto del metabolismo de un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, polimorfo o solvato, que exhibe una actividad similar *in vivo* al citado compuesto de la presente invención.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "mezclar" significa combinar, conjugar, agitar, batir, arremolinar o revolver. El término "agitar" significa mezclar, batir, revolver, o arremolinar. El término "revolver" significa mezclar, batir, agitar, o arremolinar.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse igualmente

29

como profármacos, por ejemplo profármacos farmacéuticamente aceptables. Los términos "pro-fármaco" y "profármaco" se usan indistintamente en esta especificación y se refieren a cualquier compuesto que libera un medicamento precursor activo *in vivo*. Puesto que los profármacos son conocidos por mejorar numerosas cualidades deseables de los productos farmacéuticos (v.g., solubilidad, biodisponibilidad, fabricación, etc.), los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma de profármaco. Por consiguiente, la presente invención pretende cubrir profármacos de los compuestos actualmente reivindicados, métodos de administrar los mismos y composiciones que los contienen. El término "profármaco" incluye un compuesto de la presente invención enlazado covalentemente a una o más pro-fracciones, tales como una fracción aminoácido u otra fracción que se solubilice en agua. Un compuesto de la presente invención puede liberarse de la pro-fracción mediante mecanismos de liberación hidrolíticos, oxidativos, y/o enzimáticos. En una modalidad, una composición de profármaco de la presente invención exhibe el beneficio agregado de una solubilidad acuosa incrementada, estabilidad mejorada, y perfiles fármaco-cinéticos ampliados. La pro-fracción puede seleccionarse para obtener características deseadas del profármaco. Por ejemplo, la pro-fracción, v.g., una fracción aminoácido u otra fracción que se solubiliza en agua, tal como fosfato, puede seleccionarse basándose en la solubilidad, estabilidad, biodisponibilidad, y/o liberación *in vivo* o absorción. El término "profármaco" pretende asimismo incluir cualesquiera portadores covalentemente enlazados que liberen un medicamento precursor activo de la presente invención *in vivo* cuando tal profármaco se administra a un sujeto. Los profármacos en la presente invención se preparan modificando grupos funcionales presentes en el compuesto, de tal manera que las modificaciones se escindan, ya sea en manipulación rutinaria o *in vivo*, para obtener el compuesto precursor. Los profármacos incluyen compuestos de la presente invención en donde un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxi, o carbonilo se enlaza a cualquier grupo que puede escindirse *in vivo* para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre; sulfhidrilo libre, carboxi libre o carbonilo libre, respectivamente.

Ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, ésteres (v.g., acetato, dialquilaminoacetatos, formiatos, fosfatos, sulfatos, y derivados de benzoato) y carbamatos (v.g., N,N-dimetilaminocarbonilo) de grupos funcionales hidroxilo, grupos ésteres (v.g. ésteres etílicos, ésteres de morfolinoetanol) de grupos funcionales carboxilo, derivados de N-acilo (v.g. N-acetilo) bases N de Mannich, bases de Schiff y enamionas de grupos funcionales amino, oximas, acetales, cetales y enol ésteres de grupos funcionales cetona y aldehído en compuestos de Fórmula I, y similares; véase Bundegaard, H. "Design of Prodrugs" páginas 1-92,

Elsevier, New York-Oxford (1985).

Síntesis de Compuestos de (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona

Métodos sintéticos estándar y procedimientos para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones y manipulaciones de grupos funcionales, incluyendo el uso de grupos protectores, pueden obtenerse de la literatura científica relevante o de libros de texto de referencia estándar en el campo. Aunque sin limitarse a una cualquiera o varias fuentes, libros de texto de referencia reconocidos de síntesis orgánica incluyen: Smith, M. B.; March, J. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001; y Greene, T.W.; Wuts, P.G. M. Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd; John Wiley & Sons: New York, 1999. Las siguientes descripciones de métodos sintéticos están destinadas a ilustrar, mas no a limitar, procedimientos generales para la preparación de compuestos de la invención.

La presente invención proporciona además un método para preparar (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que comprende: (a) mezclar (±)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con (1S,2S)-(+)-seudoefedrina en un primer solvente para formar (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina sólida; (b) lavar la (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina sólida, formada en el paso (a) con una mezcla acuosa del primer solvente; (c) hacer reaccionar la (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina del paso (b) con un ácido en un solvente orgánico y aislar la capa orgánica de la solución resultante; (d) lavar la capa orgánica del paso (c); (e) agregar un segundo solvente a la capa orgánica; (f) concentrar la capa orgánica hasta que la cantidad del segundo solvente en la solución es menos de 5%; y (g) cristalizar a partir de la capa orgánica en el paso (f) y secar la (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona resultante bajo vacío, produciendo así (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. Preferiblemente, la (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1%, menos de 0,7%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

El primer solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el primer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores. El segundo solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el segundo solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores. En algunas modalidades, el segundo solvente es el mismo que el citado primer solvente. En otras modalidades, el segundo solvente es diferente del citado primer solvente. El solvente orgánico en el paso (c) puede ser metiltetrahidrofurano. En algunas modalidades, la capa orgánica se lava con una solución salina en el paso (d). Preferiblemente, la solución salina es una solución de cloruro de sodio.

El método puede incluir además enjuagar el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona luego del paso (g). En algunas modalidades, el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se enjuaga con un alcohol. Preferiblemente, el alcohol se selecciona de etanol y metanol.

La presente invención proporciona igualmente un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que comprende (a) mezclar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-pseudoefedrina y un ácido; (b) agregar un alcohol a la mezcla de (a) para formar una lechada; (c) calentar y agitar la lechada formada en (b); (d) enfriar y aislar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona; (e) lavar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona aislada en el paso (d) con un primer solvente; (f) disolver (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona del paso (e) en un segundo solvente para formar una solución; (g) agregar un tercer solvente a la solución en (f) y destilar la solución hasta que la cantidad del citado segundo solvente en la solución es menos de 5%; (h) cristalizar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona a partir de la solución en (g); (i) opcionalmente, agregar un cuarto solvente (preferiblemente agua) para madurar los cristales de (h); (j) aislar los cristales de (i) mediante filtración; (k) lavar los cristales de (j) con una mezcla del tercer solvente y el cuarto solvente; y (l) secar los cristales de (k) bajo vacío, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

El alcohol puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El

primer solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el primer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El segundo solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el segundo solvente no acuoso es tetrahidrofurano. El tercer solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el tercer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El cuarto solvente puede ser un solvente acuoso. Preferiblemente, el cuarto solvente es agua.

La presente invención proporciona además un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que comprende: (a) disolver (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona en diclorometano y aislar la (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano; (b) disolver (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano en un primer solvente; (c) destilar la solución del paso (b) hasta que el nivel de diclorometano en la solución es < 0.1 % en peso; (d) diluir la solución del paso (c) en un segundo solvente; (e) introducir la solución del paso (d) en un sistema de cromatografía multicolumna que contiene un empaquetado apropiado para separación quiral; (f) agrupar los residuos de refinado resultantes, obtenidos del sistema en el paso (e); y (g) cristalizar los residuos de refinado del paso (f) y filtrar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona resultante o evaporar los residuos de refinado del paso (f) a sequedad, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. Preferiblemente, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1%, menos de 0,7%, menos de 0,5% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Preferiblemente, el primer solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores. El segundo solvente puede ser un solvente no acuoso. Preferiblemente, el segundo solvente no acuoso puede ser metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores. Más preferiblemente, el segundo solvente no acuoso es una mezcla de metanol y acetonitrilo.

El Esquema I proporciona un resumen para la producción de las presentes composiciones que contienen (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona altamente purificada (> 99% de pureza quiral), con cantidades mínimas presentes (< 1%) del enantiómero no deseado,

(+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. Preferiblemente, las composiciones contienen (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona que tiene una pureza quiral de más de 99,3%, más de 99,5%, más de 99,6%, más de 99,7%, más de 99,8% o más de 99,9%. Preferiblemente, las composiciones contienen menos de 0,7%, menos de 0,5%, menos de 0,4%, menos de 0,3%, menos de 0,2% o menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Como se ilustra en el Esquema I y se describe en detalle en los siguientes ejemplos, se utilizan varios procedimientos para producir y aislar estas composiciones que contienen (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con un alto contenido de pureza quiral, incluyendo, mas no limitados a, resolución por cromatografía multicolumna, resolución de sal diastereomérica o resolución cinética dinámica.

En el paso 1 del Esquema I, lilolidina (**Compuesto 4**), se trató con cloruro de oxalilo para producir el cloruro de acilo en el solvente de reacción metil *terc*-butil éter (MTBE). La adición de metanol fue suficiente para proporcionar el cetoéster intermedio, éster metílico de ácido 5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il) oxoacético (**Compuesto 5**). En el paso 2 de la reacción, **Compuesto 5** e indol-3-acetamida (**Compuesto 5a**) se combinaron para producir 3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrol-2,5-diona (**Compuesto 6**). Como se describe en detalle en los siguientes ejemplos, no es necesario aislar el **Compuesto 5** intermedio para producir el **Compuesto 6**. Fue necesario un cambio de solvente ("*solvent swap*") de MTBE en tetrahidrofurano (THF) antes de conducir el paso 2, puesto que tanto **5** como **5a** tienen una solubilidad muy baja en MTBE. Luego de la adición del **Compuesto 5a** para consumir el **Compuesto 5** en THF en la presencia de una base, se agregó HCl para completar la reacción, a fin de proporcionar el **Compuesto 6** crudo. El **Compuesto 6** crudo se purificó entonces a partir de DCM y heptano para proporcionar **Compuesto 6** de pureza suficiente para proceder al siguiente paso. Una descripción detallada de este proceso se muestra en Ejemplo 1.

Compuesto 6 se hidrogenó con hidróxido de paladio, THF, y *terc*-butóxido de potasio para producir el racemato *trans* crudo, (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 8**). Como se describe en los ejemplos, la preparación de **Compuesto 8** no requiere el aislamiento del racemato *cis* crudo (±)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 7**). En su lugar,

durante la hidrogenación de **Compuesto 6**, se modificaron las condiciones para efectuar la isomerización del **Compuesto 7** resultante *in situ*. El proceso resultante provee un medio de controlar impurezas claves en **Compuesto 8**, específicamente **Compuesto 6**. Específicamente, la reacción se lleva a cabo en solvente THF, y el catalizador empleado es hidróxido de paladio. Se agrega asimismo *terc*-butóxido de potasio a la mezcla de reacción para promover la isomerización. Una descripción detallada de este proceso se ilustra en Ejemplo 2.

La impureza más común en **Compuesto 8** es típicamente **Compuesto 7**. Puesto que **Compuesto 7** es en sí mismo quiral, es particularmente difícil predecir la elución de isómeros de **Compuesto 7** a partir de Cromatografía Multicolumna (MCC) cuando se utiliza **Compuesto 8** de pureza inferior (< 99%). Con el fin de garantizar un producto de alta pureza, es por lo tanto necesario aumentar la pureza del racemato, **Compuesto 8**, antes de la resolución enantiomérica mediante MCC. Se determinó que la pureza de **Compuesto 8** podía mejorarse por cristalización selectiva de solvatos a partir de varios solventes. Un solvato similar formado de diclorometano (DCM) proporciona **Compuesto 8 DCM** con pureza química muy alta (> 99%). Como se ilustra en Esquema I, el **Compuesto 8 DCM** se formó disolviendo el **Compuesto 8** crudo en DCM y luego ensemillando con cristales DCM. Luego de dejar crecer el lecho de semilla a una masa crítica, se agregó heptano para inducir la cristalización a su terminación. Luego del aislamiento por filtración y extracción del grueso del solvente residual bajo vacío, **Compuesto 8 DCM** contenía típicamente 0.8-0.9 moles de DCM con respecto a **Compuesto 8**. Esta cristalización del solvato elimina las impurezas del proceso presentes en el **Compuesto 8** crudo (95-98%) como resultado de la hidrogenación e isomerización. Una descripción detallada de este proceso se ilustra en Ejemplo 3.

La presente invención proporciona la resolución quiral de los dos enantiómeros de **Compuesto 8 DCM** mediante MCC, como se muestra en el Esquema I. El proceso de separación enantiomérica MCC ofrece una ventaja sobre la separación por cromatografía en lotes HPLC en el sentido de que puede brindar una pureza quiral elevada (> 99 %) a escala mayor (> 20 kg) que la preparación en lotes. La resolución MCC puede llevarse a cabo ya sea en metanol, una mezcla de metanol y etanol (1:1 vol) o metanol y acetonitrilo (9:1 v/v). La fase estacionaria quiral (CSP - *chiral stationary phase*) utilizada es Chiralpak AD o AZ, adquirida de Chiral Technologies, Inc. La concentración de la solución de carga de racemato está en el rango de 20-50 g/L. Preferiblemente, la pureza quiral especificada para la separación es > 99% de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto**

10) y contiene <1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4H-pirrol-3-ilo)quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 9**).

Específicamente, las separaciones se llevan a cabo preparando una solución de carga del **Compuesto 8** racémico en la fase móvil elegida. Esta solución se prepara a partir de **Compuesto 8 DCM** disolviendo inicialmente el material en metanol. Los parámetros cromatográficos se calcularon antes de la producción, y se condujo una optimización final durante las horas iniciales o días de separación de la solución de carga. Donde las fracciones iniciales recolectadas no satisficieron la especificación de pureza quiral, se recicló el material a la solución de carga para repetir la resolución. Una vez se establecieron los parámetros de operación para satisfacer las especificaciones, se aplicaron las condiciones para separar todo el volumen de solución de carga. De principio a fin de la operación, **Compuesto 10** se recolectó como la corriente de residuos de refinado, se agrupó, y se concentró. Los residuos de refinado concentrados o bien se concentraron a sequedad (escala < 5 kg) o bien se concentraron y se ensemillaron para inducir la cristalización de **Compuesto 10** (escala > 5 kg). Una descripción detallada de este proceso se muestra en Ejemplo 4.

Además de la resolución MCC, se empleó un método clásico para la resolución de ácidos o bases quirales a través de la formación de sales diastereoméricas. En el caso de **Compuesto 10**, podrían usarse ya sea ácidos o bases, puesto que la molécula es anfotérica. Luego de una identificación selectiva detallada de bases quirales, se demostró que las sales formadas de los enantiómeros de **Compuesto 8** con pseudoefedrina tienen perfiles de solubilidad ampliamente diferentes en algunos solventes. Esta relación se optimizó para posibilitar la resolución de **Compuesto 8** usando (1S,2S)-(+)-pseudoefedrina para proporcionar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4H-pirrol-3-ilo)quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona-(1S,2S)-(+)-pseudoefedrina (**Compuesto 10 (1S,2S)-(+)-pseudoefedrina**) selectivamente. Una descripción detallada de este proceso se muestra en Ejemplo 6. Otro proceso provisto por la presente invención es racemizar el enantiómero no deseado, (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4H-pirrol-3-ilo)quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 9**), *in situ* usando Resolución Cinética Dinámica (DKR - *Dynamic Kinetic Resolution*). Una descripción detallada de este proceso se muestra en Ejemplo 7.

Tanto en el proceso de resolución MCC como en la resolución clásica de sal diastereomérica, el enantiómero no deseado, **Compuesto 9**, se aísla. Este enantiómero no deseado puede isomerizarse para obtener **Compuesto 8** racémico. Esto se logra implementando el mismo procedimiento para isomerizar el

cis-isómero, **Compuesto 7**, para proporcionar el racemato *trans* crudo **Compuesto 8**. La isomerización se lleva a cabo ya sea en metanol o etanol usando hidróxido de sodio como una base. Una descripción detallada de este proceso se muestra en Ejemplo 5.

Los métodos de síntesis descritos en el Esquema I son fácilmente reproducibles a gran escala, v.g., 10 kg, 20 kg, 30 kg, 40 kg, 50 kg, y 60 kg y más proporcionando un rendimiento general de > 45 % de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 10**), basado en indol acetamida como un reactivo limitante. Preferiblemente, 1 kg de lilolidina (**Compuesto 4**) rinde aproximadamente 1 kg de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 10**) que tiene una pureza > 99%.

La presente invención proporciona además un método de preparar polimorfos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. El **Compuesto 10** crudo se disolvió en un solvente, por ejemplo, THF, calentando la mezcla resultante a 50 °C. La mezcla resultante se esterilizó por filtración ("**was polish filtered**"), seguida por la adición de un segundo solvente, tal como metanol, y un cristal semilla de forma 1 de **Compuesto 10**.

El uso de cristales semilla imparte control polimórfico del proceso de cristalización. En la ausencia de ensemillamiento, forma 1 o forma 2 puede cristalizarse espontáneamente en alta pureza. Por consiguiente, para proporcionar semillas de forma 1 o forma 2, se permite cristalización espontánea; y, una vez formado, el producto cristalino puede caracterizarse usando análisis cuantitativo por difracción de rayos X de polvo para determinar la forma de cristal resultante y su pureza polimórfica. Luego de tal caracterización, este producto cristalino puede usarse como "cristales semilla" o "semillas" para controlar el polimorfo, ya sea forma 1 o forma 2, generado durante las cristalizaciones subsiguientes como se describe en esta especificación.

La solución se concentró entonces azeotrópica y atmosféricamente por destilación para reducir el volumen del solvente, v.g., THF. La temperatura de la solución se redujo a 50 °C y se agitó durante por lo menos 4 horas. Se retiraron alícuotas para confirmar la formación del polimorfo deseado. Si se requiere, el polimorfo puede re-disolverse en THF (30% de volumen del lote), esterilizarse por filtración, concentrarse y ensemillarse para obtener el resultado polimórfico deseado. Cuando se obtuvo la forma polimórfica deseada, se agregó una solución de metanol acuoso al 50 % a 50 °C y la solución se agitó durante 2-3 horas más.

La solución se enfrió entonces a temperatura ambiente y se mantuvo durante por lo menos 2 horas para permitir la cristalización. Al terminar, los cristales se aislaron por filtración, se lavaron con metanol adicional acuoso al 50 %, y se secaron bajo vacío a 65 °C durante por lo menos 12 horas. Se aisló la forma 1 polimórfica de **Compuesto 10** como un sólido rojo-marrón.

El polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona puede prepararse asimismo con el método indicado anteriormente si el cristal semilla de forma 1 se reemplaza por el cristal semilla de forma 2.

Métodos de Tratamiento

La presente invención proporciona métodos para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular en un sujeto necesitado de ello, administrando a un sujeto necesitado de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que contiene (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC y contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

El trastorno proliferativo celular puede ser cáncer o una enfermedad precancerosa. La presente invención provee además el uso de una composición de (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento útil para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular.

La presente invención proporciona igualmente métodos de proteger contra un trastorno proliferativo celular en un sujeto necesitado de ello, administrando

una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que contiene (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables a un sujeto en necesidad de tal tratamiento. El trastorno proliferativo celular puede ser cáncer o una enfermedad precancerosa. La presente invención permite además el uso de un compuesto de (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% determinada por HPLC y que contiene menos de 1 % de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento útil para proteger contra un trastorno proliferativo celular.

Tal como se emplea en esta especificación, un "sujeto necesitado de ello" es un sujeto que tiene un trastorno proliferativo celular, o un sujeto que tiene un riesgo incrementado de desarrollar un trastorno proliferativo celular, relativo a la población en general. Un sujeto necesitado de ello puede sufrir de una enfermedad precancerosa. Preferiblemente, un sujeto necesitado de ello tiene cáncer. Un "sujeto" incluye un mamífero. El mamífero puede ser v.g., cualquier mamífero, v.g., un humano, primate, ave, ratón, rata, ave de corral, perro, gato,

vaca, caballo, cabra, camello, oveja o un cerdo. Preferiblemente, el mamífero es un humano.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "trastorno proliferativo celular" se refiere a enfermedades en las cuales un crecimiento no regulado o anormal, o ambos, de células puede llevar al desarrollo de una afección indeseada o enfermedad, que puede ser o no cancerosa. Trastornos proliferativos celulares de la invención engloban una variedad de enfermedades en donde la división celular está desregulada. Trastornos proliferativos celulares ejemplares incluyen, pero no se limitan a, neoplasias, tumores benignos, tumores malignos, enfermedades precancerosas, tumores *in situ*, tumores encapsulados, tumores metastásicos, tumores líquidos, tumores sólidos, tumores inmunológicos, tumores hematológicos, cánceres, carcinomas, leucemias, linfomas, sarcomas, y células que se dividen rápidamente. El término "célula que se divide rápidamente", tal como se emplea en esta especificación, se define como cualquier célula que se divide a una velocidad que excede de, o es mayor de lo que se espera u observa entre células vecinas o yuxtapuestas dentro del mismo tejido. Un trastorno proliferativo celular incluye un pre-cáncer o una enfermedad precancerosa. Un trastorno proliferativo celular incluye cáncer. Preferiblemente, los métodos provistos en esta especificación se usan para tratar o aliviar un síntoma de cáncer. El término "cáncer" incluye tumores sólidos, así como tumores hematológicos y/o neoplasias malignas. Una "célula pre-cancerígena" o "célula precancerosa" es una célula que manifiesta un trastorno proliferativo celular que es pre-cáncer o una enfermedad precancerosa. Una "célula cancerígena" o "célula cancerosa" es una célula que manifiesta un trastorno proliferativo celular que es cáncer. Cualquier medio reproducible de medición puede usarse para identificar células cancerígenas o células precancerosas. Las células cancerígenas o células precancerosas pueden identificarse mediante clasificación histológica o graduación de una muestra de tejido (v.g., una muestra de biopsia). Las células cancerígenas o células precancerosas pueden identificarse mediante el uso de marcadores moleculares apropiados.

Enfermedades o trastornos no cancerosos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, artritis reumatoide; inflamación; enfermedad autoinmunitaria; enfermedades linfoproliferativas; acromegalia; espondilitis reumatoide; osteoartritis; gota, otras enfermedades artríticas; septicemia; choque septicémico; choque endotóxico; septicemia gram-negativa; síndrome de choque tóxico; asma; síndrome de enfermedad respiratoria aguda; enfermedad pulmonar obstructiva crónica; inflamación pulmonar crónica; enteropatía inflamatoria; enfermedad de Crohn; psoriasis; eczema; colitis ulcerosa; fibrosis pancreática; fibrosis hepática;

enfermedad renal aguda y crónica; . síndrome del intestino irritable; fiebre; restenosis; malaria cerebral; apoplejía y lesión isquémica; trauma neuronal; enfermedad de Alzheimer; enfermedad de Huntington; enfermedad de Parkinson; dolor crónico y agudo; rinitis alérgica; conjuntivitis alérgica; insuficiencia cardíaca crónica; síndrome coronario agudo; caquexia; malaria; lepra; leishmaniasis; enfermedad de Lyme; síndrome de Reiter; sinovitis aguda; degeneración muscular, bursitis; tendinitis; tenosinovitis; hernias discales, o síndrome de prolapso discal intervertebral; osteopetrosis; trombosis; restenosis; silicosis; sarcosis pulmonar; enfermedades de reabsorción ósea, tales como osteoporosis; reacción de injerto contra huésped; esclerosis múltiple; lupus; fibromialgia; SIDA y otras enfermedades virales tales como herpes zoster, herpes simple I o II, virus de la gripe y citomegalovirus; y diabetes sacarina.

Cánceres ejemplares incluyen, pero no se limitan a, carcinoma corticosuprarrenal, cánceres asociados con SIDA, linfoma relacionado con SIDA, cáncer anal, cáncer anorrectal, cáncer del canal anal, cáncer de apéndice, astrocitoma cerebelar de la niñez, astrocitoma cerebral de la niñez, carcinoma de células basales, cáncer de piel (no melanoma), cáncer biliar, cáncer de los ductos biliares extrahepáticos, cáncer de los ductos biliares intrahepáticos, cáncer de vejiga, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de los huesos y las articulaciones, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno, cáncer cerebral, tumor cerebral, glioma del tronco cerebral, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral/glioma maligno, ependimoma, meduloblastoma, tumores neuroectodermales primitivos supratentoriales, glioma de las vías visuales e hipotalámicas, cáncer de mama, adenomas bronquiales/carcinoides, tumor carcinoide, cáncer gastrointestinal, cáncer del sistema nervioso, linfoma del sistema nervioso, cáncer del sistema nervioso central, linfoma del sistema nervioso central, cáncer cervical, cánceres de la niñez, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, cáncer colorrectal, linfoma de linfocitos T cutáneo, neoplasma linfoide, micosis fungoide, síndrome de Sézary, cáncer endometrial, cáncer esofágico, tumor de células germinativas extracraneales, tumor de células germinativas extragonadales, cáncer de los ductos biliares extrahepáticos, cáncer ocular, melanoma intraocular, retinoblastoma, cáncer de la vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumor estromal gastrointestinal (GIST - *gastrointestinal stromal tumor*), tumor de las células germinativas, tumor de las células germinativas ováricas, glioma de tumor trofoblástico gestacional, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular (hígado), linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, melanoma intraocular, cáncer ocular, tumores de los islotes pancreáticos (páncreas endocrino), sarcoma de Kaposi, cáncer del riñón, cáncer

renal, cáncer de laringe, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, leucemia de tricoleucocitos, cáncer de los labios y la cavidad bucal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer pulmonar amicrocítico, cáncer pulmonar microcítico, linfoma relacionado con SIDA, linfoma no hodgkiniano, linfoma del sistema nervioso central primario, macroglobulinemia de Waldenström, meduloblastoma, melanoma, melanoma intraocular (ojo), carcinoma de células de Merkel, mesotelioma mesotelioma maligno, cáncer de cuello epidermoide metastásico, cáncer de la boca, cáncer de la lengua, síndrome de neoplasia endocrina múltiple, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena crónica, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer oral, cáncer de la cavidad bucal, cáncer orofaríngeo, cáncer ovárico, cáncer epitelial ovárico, tumor potencial maligno de la parte baja del ovario, cáncer pancreático, cáncer de los islotes pancreáticos, cáncer de los senos paranasales y cáncer de la cavidad nasal, cáncer paratiroide, cáncer del pene, cáncer faríngeo, feocromocitoma, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor de la pituitaria, neoplasma de las células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, cáncer de próstata, cáncer rectal, pelvis renal y la uretra, cáncer de células de transición, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de las glándulas salivales, familia de tumores de sarcoma de Ewing, sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejido blando, cáncer uterino, sarcoma uterino, cáncer de piel (no melanoma), cáncer de piel (melanoma), carcinoma de piel de células de Merkel, cáncer del intestino delgado, carcinoma de células epidermoides, cáncer de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, cáncer testicular, cáncer de garganta, timoma, timoma y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, cáncer de células de transición de la pelvis renal y de la uretra y demás órganos urinarios, tumor trofoblástico gestacional, cáncer de la uretra, cáncer uterino endometrial, sarcoma uterino, cáncer del cuerpo uterino, cáncer vaginal, cáncer de la vulva, y tumor de Wilm.

Un "trastorno proliferativo celular del sistema hematológico" es un trastorno proliferativo celular que compromete las células del sistema hemotológico. Un trastorno proliferativo celular del sistema hematológico puede incluir linfoma, leucemia, neoplasias mieloides, neoplasias de los mastocitos, mielodisplasia, gammopatía monoclonal benigna, granulomatosis linfomatoide, papulosis linfomatoide, policitemia vera, leucemia mielocítica crónica, metaplasia mieloide agnógena, y trombocitemia esencial. Un trastorno proliferativo celular del sistema hematológico puede incluir hiperplasia, displasia, y metaplasia de células del

sistema hematológico. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar un cáncer seleccionado del grupo conformado por un cáncer hematológico de la presente invención o un trastorno proliferativo celular hematológico de la presente invención. Un cáncer hematológico de la presente invención puede incluir mieloma múltiple, linfoma (incluyendo linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfomas de la niñez, y linfomas de origen linfocítico y cutáneo), leucemia (incluyendo leucemias de la niñez, leucemia de los tricoleucocitos, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica, leucemia mielógena crónica, y leucemia de los mastocitos), neoplasias mieloides y neoplasias de los mastocitos.

Un "trastorno proliferativo celular del pulmón" es un trastorno proliferativo celular que compromete las células del pulmón. Los trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células del pulmón. Los trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir cáncer de pulmón, un pre-cáncer o una enfermedad precancerosa del pulmón, crecimientos benignos o lesiones del pulmón, y crecimientos malignos o lesiones del pulmón, y lesiones metastásicas en tejido y órganos en el cuerpo distintos del pulmón. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar cáncer de pulmón o trastornos proliferativos celulares del pulmón. El cáncer de pulmón puede incluir todas las formas de cáncer del pulmón. El cáncer de pulmón puede incluir neoplasias pulmonares malignas, carcinoma *in situ*, tumores carcinoides típicos, y tumores carcinoides atípicos. El cáncer de pulmón puede incluir cáncer pulmonar microcítico ("SCLC" - *small cell lung cancer*), cáncer pulmonar amicrocítico ("NSCLC" - *non-small cell lung cancer*), cáncer pulmonar amicrocítico no epidermoide, cáncer pulmonar amicrocítico epidermoide, carcinoma de células epidermoides, carcinoma de células no epidermoides, adenocarcinoma, carcinoma microcítico, carcinoma de células grandes, carcinoma celular adenoepidermoide, y mesotelioma. El cáncer de pulmón puede incluir "carcinoma asociado a cicatriz," carcinoma bronquioalveolar, carcinoma de células gigantes, carcinoma de células fusiformes, y carcinoma neuroendocrino de células grandes. El cáncer de pulmón puede incluir neoplasias del pulmón que tienen heterogeneidad ultraestructural e histológica (v.g., tipos de células mixtas).

Los trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células del pulmón. Los trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir cáncer de pulmón, enfermedades precancerosas del pulmón. Los trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir hiperplasia, metaplasia, y displasia del pulmón. Los

trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir hiperplasia inducida por asbesto, metaplasia epidermoide, y metaplasia mesotelial reactiva benigna. Los trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir sustitución del epitelio columnar con epitelio epidermoide estratificado, y displasia mucosal. Los individuos expuestos a agentes ambientales nocivos inhalados, tales como humo de cigarillo y asbesto pueden estar en riesgo creciente de desarrollar trastornos proliferativos celulares del pulmón. Enfermedades pulmonares previas que pueden predisponer a los individuos al desarrollo de trastornos proliferativos celulares del pulmón pueden incluir enfermedad pulmonar intersticial crónica, enfermedad pulmonar necrosante, escleroderma, enfermedad reumatoide, sarcoidosis, neumonitis intersticial, tuberculosis, neumonías repetidas, fibrosis pulmonar idiopática, granulomas, asbestosis, alveolitis fibrosante, y enfermedad de Hodgkin.

Un "trastorno proliferativo celular del colon" es un trastorno proliferativo celular que compromete células del colon. Preferiblemente, el trastorno proliferativo celular del colon es cáncer de colon. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar cáncer de colon o trastornos proliferativos celulares del colon. El cáncer de colon puede incluir todas las formas de cáncer del colon. El cáncer de colon puede incluir neoplasias malignas hereditarias y esporádicas. El cáncer de colon puede incluir neoplasias malignas del colon, carcinoma *in situ*, tumores carcinoides típicos, y tumores carcinoides atípicos. El cáncer de colon puede incluir adenocarcinoma, carcinoma de células epidermoides, y carcinoma de células adenoepidermoides. El cáncer de colon puede estar asociado con un síndrome hereditario seleccionado del grupo conformado por cáncer colorrectal hereditario sin poliposis, poliposis adenomatosa familiar, síndrome de Gardner, síndrome de Peutz-Jeghers, síndrome de Turcot y poliposis juvenil. El cáncer de colon puede ser causado por un síndrome hereditario seleccionado del grupo conformado por cáncer colorrectal hereditario sin poliposis, poliposis adenomatosa familiar, síndrome de Gardner, síndrome de Peutz-Jeghers, síndrome de Turcot y poliposis juvenil.

Los trastornos proliferativos celulares del colon pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células del colon. Los trastornos proliferativos celulares del colon pueden incluir cáncer de colon, enfermedades precancerosas del colon, pólipos adenomatosos del colon y lesiones metacrónicas del colon. Un trastorno proliferativo celular del colon puede incluir adenoma. Los trastornos proliferativos celulares del colon pueden caracterizarse por hiperplasia, metaplasia, y displasia del colon. Enfermedades previas del colon que pueden predisponer a los individuos al desarrollo de

trastornos proliferativos celulares del colon pueden incluir cáncer previo del colon. Enfermedades corrientes que pueden predisponer a los individuos al desarrollo de trastornos proliferativos celulares del colon pueden incluir enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa. Un trastorno proliferativo celular del colon puede asociarse con una mutación en un gen seleccionado del grupo conformado por p53, *ras*, *FAP* y *DCC*. Un individuo puede tener un riesgo elevado de desarrollar un trastorno proliferativo celular del colon debido a la presencia de una mutación en un gen seleccionado del grupo conformado por p53, *ras*, *FAP* y *DCC*.

Un "trastorno proliferativo celular de la próstata" es un trastorno proliferativo celular que compromete las células de la próstata. Los trastornos proliferativos celulares de la próstata pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células de la próstata. Los trastornos proliferativos celulares de la próstata pueden incluir cáncer de próstata, un pre-cáncer o una enfermedad precancerosa de la próstata, crecimientos o lesiones benignos de la próstata, y crecimientos o lesiones malignos de la próstata, y lesiones metastásicas en tejidos y órganos en el cuerpo distintos de la próstata. Los trastornos proliferativos celulares de la próstata pueden incluir hiperplasia, metaplasia, y displasia de la próstata.

Un "trastorno proliferativo celular de la piel" es un trastorno proliferativo celular que compromete las células de la piel. Los trastornos proliferativos celulares de la piel pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células de la piel. Los trastornos proliferativos celulares de la piel pueden incluir un pre-cáncer o una enfermedad precancerosa de la piel, crecimientos o lesiones benignos de la piel, melanoma, melanoma maligno y demás crecimientos o lesiones malignos de la piel, y lesiones metastásicas en tejido y órganos en el cuerpo distintos de la piel. Los trastornos proliferativos celulares de la piel pueden incluir hiperplasia, metaplasia, y displasia de la piel.

Un "trastorno proliferativo celular del ovario" es un trastorno proliferativo celular que compromete las células del ovario. Los trastornos proliferativos celulares del ovario pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células del ovario. Los trastornos proliferativos celulares del ovario pueden incluir un pre-cáncer o una enfermedad precancerosa del ovario, crecimientos o lesiones benignos del ovario, cáncer ovárico, crecimientos o lesiones malignos del ovario, y lesiones metastásicas en tejido y órganos en el cuerpo distintos del ovario. Los trastornos proliferativos celulares del ovario pueden incluir hiperplasia, metaplasia, y displasia de las células del ovario.

Un "trastorno proliferativo celular de la mama" es un trastorno proliferativo celular que compromete las células de la mama. Los trastornos proliferativos celulares de la mama pueden incluir todas las formas de trastornos proliferativos celulares que afectan las células de la mama. Los trastornos proliferativos celulares de la mama pueden incluir cáncer de mama, un pre-cáncer o una enfermedad precancerosa de la mama, crecimientos o lesiones benignos de la mama, y crecimientos o lesiones malignos de la mama, y lesiones metastásicas en tejido y órganos en el cuerpo distintos de la mama. Los trastornos proliferativos celulares de la mama pueden incluir hiperplasia, metaplasia, y displasia de la mama.

Un trastorno proliferativo celular de la mama puede ser una enfermedad precancerosa de la mama. Las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar una enfermedad precancerosa de la mama. Una enfermedad precancerosa de la mama puede incluir hiperplasia atípica de la mama, carcinoma ductal *in situ* (DCIS – *ductal carcinoma in situ*), carcinoma intraductal, carcinoma lobular *in situ* (LCIS – *carcinoma lobular in situ*), neoplasia lobular, y crecimiento o lesión de estadio 0 o grado 0 de la mama (v.g., cáncer de mama de estadio 0 o grado 0, o carcinoma *in situ*). Una enfermedad precancerosa de la mama puede estadificarse de acuerdo con el esquema de clasificación TNM aceptado por The American Joint Committee on Cancer (AJCC), en el que al tumor primario (T) se le ha asignado un estadio de T0 o Tis; y en el que a los nodos linfáticos regionales (N) se les ha asignado un estadio de N0; y en donde a la metástasis distante (M) se le ha asignado un estadio de M0.

El trastorno proliferativo celular de la mama puede ser cáncer de mama. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar cáncer de mama. El cáncer de mama incluye todas las formas de cáncer de la mama. El cáncer de mama puede incluir cánceres de mama epiteliales primarios. El cáncer de mama puede incluir cánceres en los cuales la mama se ve comprometida por otros tumores tales como linfoma, sarcoma o melanoma. El cáncer de mama puede incluir carcinoma de la mama, carcinoma ductal de la mama, carcinoma lobular de la mama, carcinoma no diferenciado de la mama, cistosarcoma filoides de la mama, angiosarcoma de la mama, y linfoma primario de la mama. El cáncer de mama puede incluir cáncer de mama de Estadio I, II, IIIA, IIIB, IIIC y IV. El carcinoma ductal de la mama puede incluir carcinoma invasivo, carcinoma invasivo *in situ* con componente intraductal predominante, cáncer de mama inflamatorio, y carcinoma ductal de la mama con un tipo histológico seleccionado del grupo conformado por comedón, mucinoso (coloide), medular, medular con infiltrado linfocítico, papilar, duro y fibroso, y tubular. El

carcinoma lobular de la mama puede incluir carcinoma lobular invasivo con componente predominante *in situ*, carcinoma lobular invasivo, y carcinoma lobular infiltrante. El cáncer de mama puede incluir enfermedad de Paget, enfermedad de Paget con carcinoma intraductal, y enfermedad de Paget con carcinoma ductal invasivo. El cáncer de mama puede incluir neoplasias de la mama que tienen heterogeneidad histológica y ultraestructural (v.g., tipos de células mixtas).

Preferiblemente, un compuesto de la presente invención puede usarse para tratar cáncer de mama. Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir cáncer de mama familiar. Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir cáncer de mama esporádico. Un cáncer de mama que debe tratarse puede originarse en un sujeto masculino. Un cáncer de mama que debe tratarse puede originarse en un sujeto femenino. Un cáncer de mama que debe tratarse puede surgir en un sujeto femenino premenopáusico. Un cáncer de mama que debe tratarse puede originarse en un sujeto de 30 o más años de edad, o un sujeto con una edad inferior a 30 años. Un cáncer de mama que debe tratarse puede originarse en un sujeto de 50 o más años de edad, o un sujeto con menos de 50 años de edad. Un cáncer de mama que debe tratarse puede originarse en un sujeto de 70 o más años de edad, o un sujeto con menos de 70 años de edad.

Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse para identificar una mutación espontánea o familiar en BRCA1, BRCA2, o p53. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como uno que tiene una amplificación del gen HER2/neu, como sobreexpresar HER2/neu, o como uno que tiene un nivel bajo, intermedio o elevado de expresión de HER2/neu. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse para un marcador seleccionado del grupo conformado por el receptor de estrógeno (ER – *estrogen receptor*), receptor de progesterona (PR – *progesterone receptor*), receptor-2 del factor de crecimiento epidérmico humano, Ki-67, CA15-3, CA 27-29, y c-Met. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como ER desconocido, rico en ER o deficiente en ER. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como ER-negativo o ER-positivo. La clasificación de ER de un cáncer de mama puede realizarse por cualquier medio reproducible. La clasificación de ER de un cáncer de mama puede efectuarse como se publica en Onkologie 27: 175-179 (2004). Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como PR desconocido, rico en PR o deficiente en PR. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como PR-negativo o PR-positivo. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como receptor positivo o receptor negativo. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como asociado con elevados niveles sanguíneos de CA 15-3, o CA 27-29, o ambos.

Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir un tumor localizado de la mama. Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir un tumor de la mama que se asocia con una biopsia de ganglio linfático centinela (SLN - *sentinel lymph node*) negativo. Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir un tumor de la mama que se asocia con una biopsia de ganglio linfático centinela (SLN - *sentinel lymph node*) positivo. Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir un tumor de la mama que se asocia con uno o más ganglios linfáticos axilares positivos, en donde los ganglios linfáticos axilares se han estadificado por cualquier método aplicable. Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir un tumor de la mama que se ha clasificado como uno que tiene un estado negativo nodal (v.g., nodo-negativo) o un estado positivo nodal (v.g., nodo-positivo). Un cáncer de mama que debe tratarse puede incluir un tumor de la mama que ha hecho metástasis a otros sitios en el cuerpo. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse como uno que ha hecho metástasis a un sitio seleccionado del grupo conformado por hueso, pulmón, hígado, o cerebro. Un cáncer de mama que debe tratarse puede clasificarse de acuerdo con una característica seleccionada del grupo conformado por metastásica, localizada, regional, local-regional, localmente avanzada, distante, multicéntrica, bilateral, ipsilateral, contralateral, recién diagnosticada, recurrente, e inoperable.

Un compuesto de la presente invención puede usarse para tratar o prevenir un trastorno proliferativo celular de la mama, o para tratar o prevenir cáncer de mama, en un sujeto que tiene un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama, en relación con la población en general. Un sujeto con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama, en relación con la población en general, es un sujeto femenino con un historial familiar o un historial personal de cáncer de mama. Un sujeto con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama, en relación con la población en general, es un sujeto femenino que tiene una mutación de línea germinativa o espontánea en BRCA1 o BRCA2, o ambos. Un sujeto con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama, en relación con la población en general, es un sujeto femenino con un historial familiar de cáncer de mama y una mutación de línea germinal o espontánea en BRCA1 o BRCA2, o ambos. Un sujeto con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama, en relación con la población en general, es una mujer que tiene más de 30 años de edad, más de 40 años de edad, más de 50 años de edad, más de 60 años de edad, más de 70 años de edad, más de 80 años de edad, o más de 90 años de edad. Un sujeto con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama, en relación con la población en general, es un sujeto con hiperplasia atípica de la mama, carcinoma ductal carcinoma *in situ* (DCIS), carcinoma

intraductal, carcinoma lobular *in situ* (LCIS), neoplasia lobular, o un crecimiento o lesión de estadio 0 de la mama (v.g., cáncer de mama de estadio 0 o grado 0, o carcinoma *in situ*).

Un cáncer de mama que debe tratarse puede graduarse histológicamente de acuerdo con el sistema de Scarff-Bloom-Richardson, en donde a un tumor de la mama se le ha asignado un puntaje de conteo de mitosis de 1, 2, o 3; un puntaje de pleiomorfismo nuclear de 1, 2, o 3; un puntaje de formación de túbulos de 1, 2, o 3; y un puntaje de Scarff-Bloom-Richardson total de entre 3 y 9. A un cáncer de mama que debe tratarse puede asignarse un grado de tumor de acuerdo con The International Consensus Panel on the Treatment of Breast Cancer, seleccionado del grupo conformado por grado 1, grado 1-2, grado 2, grado 2-3, o grado 3.

Un cáncer que se va a tratar puede estadificarse de acuerdo con The American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM classification system, en donde al tumor (T) se le ha asignado un estadio de TX, T1, T1mic, T1a, T1b, T1c, T2, T3, T4, T4a, T4b, T4c, o T4d; y en donde a los ganglios linfáticos regionales (N) se les ha asignado un estadio de NX, NO, N1, N2, N2a, N2b, N3, N3a, N3b, o N3c; y en donde a la metástasis distante (M) puede asignársele un estadio de MX, M0, o M1. Un cáncer que se va a tratar puede estadificarse de acuerdo con una clasificación del American Joint Committee on Cancer (AJCC) como Estadio I, Estadio IIA, Estadio IIB, Estadio IIIA, Estadio IIIB, Estadio IIIC, o Estadio IV. A un cáncer que se va a tratar puede asignársele un grado de acuerdo con una clasificación AJCC como Grado GX (v.g., el grado no puede evaluarse), Grado 1, Grado 2, Grado 3 o Grado 4. Un cáncer que se va a tratar puede estadificarse de acuerdo con una clasificación patológica AJCC (pN) de pNX, pN0, pN0 (I-), pN0 (I+), pN0 (mol-), pN0 (mol+), pN1, pN1(mi), pN1a, pN1b, pN1c, pN2, pN2a, pN2b, pN3, pN3a, pN3b, o pN3c.

Un cáncer que se va a tratar puede incluir un tumor que se ha determinado que tiene menos de o igual a alrededor de 2 centímetros de diámetro. Un cáncer que se va a tratar puede incluir un tumor que se ha determinado que tiene desde alrededor de 2 a alrededor de 5 centímetros de diámetro. Un cáncer que se va a tratar puede incluir un tumor que se ha determinado que tiene menos de o igual a alrededor de 3 centímetros de diámetro. Un cáncer que se va a tratar puede incluir un tumor que se ha determinado que tiene más de 5 centímetros de diámetro. Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse por su apariencia microscópica como bien diferenciado, moderadamente diferenciado, escasamente diferenciado, o no diferenciado. Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse por su apariencia microscópica con respecto a conteo de mitosis (v.g., cantidad de división celular) o

pleiomorfismo nuclear (v.g., cambio en células). Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse por su apariencia microscópica como asociado con áreas de necrosis (v.g., áreas de células que mueren o se degeneran). Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse como uno que tiene un cariotipo anormal, uno que tiene un número anormal de cromosomas, o uno que tiene uno o más cromosomas que son anormales en apariencia. Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse como uno que es aneuploide, triploide, tetraploide, o como uno que tiene una ploidía alterada. Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse como uno que tiene una translocación cromosómica, o una delección o duplicación de todo un cromosoma, o una región de delección, duplicación o amplificación de una porción de un cromosoma.

Un cáncer que se va a tratar puede evaluarse por citometría de ADN, citometría de flujo, o citometría de imagen. Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse como uno que tiene 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% de las células en la fase de síntesis de la división celular (v.g., en fase S de la división celular). Un cáncer que se va a tratar puede clasificarse como uno que tiene una baja fracción de fase S o una fracción de fase S alta.

Tal como se emplea en esta especificación, una "célula normal" es una célula que no puede clasificarse como parte de un "trastorno proliferativo celular." Una célula normal carece de crecimiento no regulado o anormal, o ambos, el cual puede llevar al desarrollo de una afección o enfermedad indeseada. Preferiblemente, una célula normal posee mecanismos de control del punto de regulación de ciclo celular que funcionan normalmente.

Tal como se emplea en esta especificación, "contactar una célula" se refiere a una enfermedad en la cual un compuesto u otra composición de sustancias ("**composition of matter**") está en contacto directo con una célula, o está lo suficientemente próxima para inducir un efecto biológico deseado en una célula.

Tal como se emplea en esta especificación, "compuesto candidato" se refiere a un compuesto de la presente invención que se ha probado o se probará en uno o más análisis biológicos *in vitro* o *in vivo*, con el fin de determinar si es probable que ese compuesto provoque una respuesta médica o biológica deseada en una célula, tejido, sistema, animal o humano que se está buscando por un investigador o médico. Un compuesto candidato es una composición farmacéutica que contiene (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99%, determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-

48

4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. La respuesta médica o biológica puede ser el tratamiento de cáncer. La respuesta médica o biológica puede ser el tratamiento o la prevención de un trastorno proliferativo celular. Análisis biológicos *in vitro* o *in vivo* pueden incluir, pero no se limitan a, análisis de actividad enzimática, análisis de cambio de movilidad electroforética, análisis de gen reportero, análisis de viabilidad celular *in vitro*, y los análisis descritos en esta especificación.

Tal como se emplea en esta especificación, "monoterapia" se refiere a la administración de un solo compuesto activo o terapéutico a un sujeto necesitado de ello. Preferiblemente, la monoterapia implicará la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activo. Por ejemplo, la monoterapia del cáncer con uno de los compuestos de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, a un sujeto en necesidad de tratamiento de cáncer. La monoterapia puede contrastarse con terapia de combinación, en la cual se administra una combinación compuestos activos múltiples, preferiblemente con cada componente de la combinación presente en una cantidad terapéuticamente efectiva. En un aspecto, la monoterapia con un compuesto de la presente invención es más efectiva que la terapia de combinación en inducir un efecto biológico deseado.

Tal como se emplea en esta especificación, "tratamiento" o "tratar" describe el manejo y cuidado de un paciente para el propósito de combatir una enfermedad, afección, o trastorno e incluye la administración de un compuesto de la presente invención para aliviar los síntomas o complicaciones de una enfermedad, afección o trastorno, o para eliminar la enfermedad, afección o trastorno.

Los compuestos de la presente invención pueden usarse igualmente para prevenir una enfermedad, afección o trastorno. Tal como se emplea en esta especificación, "prevención" o "prevenir" describe reducir o eliminar la iniciación de los síntomas o complicaciones de la enfermedad, afección o trastorno.

El tratamiento de cáncer puede resultar en una reducción en el tamaño de un tumor. Una reducción en el tamaño de un tumor puede designarse asimismo como "regresión de un tumor." Preferiblemente, luego del tratamiento, el tamaño del tumor se reduce en 5% o más, en relación con su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, el tamaño del tumor se reduce en 10% o más; más preferiblemente, se reduce en 20% o más; más preferiblemente, se reduce en 30% o más, más preferiblemente, se reduce en 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en 50% o más; y muy preferiblemente, se reduce en más de 75% o más. El tamaño del tumor puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. El tamaño del tumor puede medirse como un diámetro del tumor.

El tratamiento de cáncer puede resultar en una reducción en el volumen del tumor. Preferiblemente, luego del tratamiento, el volumen del tumor se reduce en 5% o más, en relación con su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, el volumen del tumor se reduce en 10% o más, más preferiblemente, se reduce en 20% o más, más preferiblemente, se reduce en 30% o más, más preferiblemente, se reduce en 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en 50% o más; y muy preferiblemente, se reduce en más de 75% o más. El volumen del tumor puede medirse por cualquier medio reproducible de medición.

El tratamiento del cáncer resulta en una disminución en el número de tumores. Preferiblemente, luego del tratamiento, el número de tumores se reduce en 5% o más, en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, el número de tumores se reduce en 10% o más, más preferiblemente, se reduce en 20% o más, más preferiblemente, se reduce en 30% o más, más preferiblemente, se reduce en 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en 50% o más; y muy preferiblemente, se reduce en más de 75%. El número de tumores puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. El número de tumores puede medirse contando los tumores visibles a simple vista o con una ampliación especificada. Preferiblemente, la ampliación especificada es 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, o 50x.

El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución de las lesiones metastásicas en otros tejidos u órganos distantes del sitio del tumor primario. Preferiblemente, luego del tratamiento, el número de lesiones metastásicas se reduce en 5% o más, en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, el número de lesiones metastásicas se reduce en 10% o más, más preferiblemente, se reduce en 20% o más, más preferiblemente, se reduce en

30% o más, más preferiblemente, se reduce en 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en 50% o más; y muy preferiblemente, se reduce en más de 75%. El número de lesiones metastásicas puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. El número de lesiones metastásicas puede medirse contando las lesiones metastásicas visibles a simple vista o con una ampliación especificada. Preferiblemente, la ampliación especificada es 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, o 50x.

El tratamiento del cáncer puede resultar en un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población de sujetos tratados, en comparación con una población que recibe un portador únicamente. Preferiblemente, el tiempo medio de supervivencia se aumenta en más de 30 días; más preferiblemente, en más de 60 días; más preferiblemente, en más de 90 días; y muy preferiblemente, en más de 120 días. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población la duración media de supervivencia luego de la iniciación del tratamiento con un compuesto activo. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse igualmente, por ejemplo, calculando para una población la duración media de supervivencia luego de la terminación de una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

El tratamiento del cáncer puede resultar en un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población de sujetos tratados, en comparación con una población de sujetos no tratados. Preferiblemente, el tiempo medio de supervivencia se aumenta en más de 30 días; más preferiblemente, en más de 60 días; más preferiblemente, en más de 90 días; y muy preferiblemente, en más de 120 días. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población la duración media de supervivencia luego de la iniciación del tratamiento con un compuesto activo. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse igualmente, por ejemplo, calculando para una población la duración media de supervivencia luego de la terminación de una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

El tratamiento del cáncer puede resultar en un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población de sujetos tratados, en comparación con una población que recibe monoterapia con un medicamento que no es un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco,

metabolito, polimorfo o solvato. Preferiblemente, el tiempo medio de supervivencia se aumenta en más de 30 días; más preferiblemente, en más de 60 días; más preferiblemente, en más de 90 días; y muy preferiblemente, en más de 120 días. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población la duración media de supervivencia luego de la iniciación del tratamiento con un compuesto activo. Un aumento en el tiempo medio de supervivencia de una población puede medirse asimismo, por ejemplo, calculando para una población la duración media, luego de la terminación de una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución de la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados, en comparación con una población que recibe un portador únicamente. El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución de la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados, en comparación con una población no tratada. El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución de la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados, en comparación con una población que recibe una monoterapia con un medicamento que no es un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato. Preferiblemente, la tasa de mortalidad se disminuye en más de 2%; más preferiblemente, en más de 5%; más preferiblemente, en más de 10%; y muy preferiblemente, en más de 25%. Una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados puede medirse por cualquier medio reproducible. Una disminución en la tasa de mortalidad de una población puede medirse, por ejemplo, calculando para una población el número medio de muertes relacionadas con la enfermedad por unidad de tiempo luego de la iniciación del tratamiento con un compuesto activo. Una disminución en la tasa de mortalidad de una población puede medirse igualmente, por ejemplo, calculando para una población el número medio de muertes relacionadas con la enfermedad por unidad de tiempo luego de la terminación de una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución de la tasa de crecimiento de un tumor. Preferiblemente, luego del tratamiento, la tasa de crecimiento del tumor se reduce en por lo menos 5% en relación con un número antes del tratamiento; más preferiblemente, la tasa de crecimiento del tumor se reduce en por lo menos 10%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 20%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 30%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 40%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos

50%; aún más preferiblemente, se reduce en por lo menos 50%; y muy preferiblemente, se reduce en por lo menos 75%. La tasa de crecimiento del tumor puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. La tasa de crecimiento del tumor puede medirse de acuerdo con una variación en el diámetro del tumor por unidad de tiempo.

El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución en un nuevo desarrollo del tumor. Preferiblemente, luego del tratamiento, un nuevo desarrollo del tumor es menos de 5%; más preferiblemente, un nuevo desarrollo del tumor es menos de 10%; más preferiblemente, menos de 20%; más preferiblemente, menos de 30%; más preferiblemente, menos de 40%; más preferiblemente, menos de 50%; aún más preferiblemente, menos de 50%; y muy preferiblemente, menos de 75%. Un nuevo desarrollo del tumor puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. Un nuevo desarrollo del tumor se mide, por ejemplo, midiendo un aumento en el diámetro de un tumor después de una reducción anterior del tumor, que siguió al tratamiento. Una disminución en un nuevo desarrollo del tumor se indica por la falta de recurrencia de tumores una vez se ha detenido el tratamiento.

El tratamiento o la prevención de un trastorno proliferativo celular puede resultar en una reducción de la tasa de proliferación celular. Preferiblemente, luego del tratamiento, la tasa de proliferación celular se reduce en por lo menos 5%; más preferiblemente, en por lo menos 10%; más preferiblemente, en por lo menos 20%; más preferiblemente, en por lo menos 30%; más preferiblemente, en por lo menos 40%; más preferiblemente, en por lo menos 50%; aún más preferiblemente, en por lo menos 50%; y muy preferiblemente, en por lo menos 75%. La tasa de proliferación celular puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. La tasa de proliferación celular se mide, por ejemplo, cuantificando el número de células que se dividen en una muestra de tejido por unidad de tiempo.

El tratamiento o la prevención de un trastorno proliferativo celular puede resultar en una reducción de la proporción de células proliferantes. Preferiblemente, luego del tratamiento, la proporción de células proliferantes se reduce en por lo menos 5%; más preferiblemente, en por lo menos 10%; más preferiblemente, en por lo menos 20%; más preferiblemente, en por lo menos 30%; más preferiblemente, en por lo menos 40%; más preferiblemente, en por lo menos 50%; aún más preferiblemente, en por lo menos 50%; y muy preferiblemente, en por lo menos 75%. La proporción de células proliferantes puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. Preferiblemente, la

proporción de células proliferantes se mide, por ejemplo, cuantificando el número de células que se dividen, en relación con el número de células que no se dividen en una muestra de tejido. La proporción de células proliferantes puede ser equivalente al índice mitótico.

El tratamiento o la prevención de un trastorno proliferativo celular puede resultar en una disminución en el tamaño de un área o zona de proliferación celular. Preferiblemente, luego del tratamiento, el tamaño de un área o zona de proliferación celular se reduce en por lo menos 5%, en relación con su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 10%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 20%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 30%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 40%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 50%; aún más preferiblemente, se reduce en por lo menos 50%; y muy preferiblemente, se reduce en por lo menos 75%. El tamaño de un área o zona de proliferación celular puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. El tamaño de un área o zona de proliferación celular puede medirse como un diámetro o ancho de un área o zona de proliferación celular.

El tratamiento o la prevención de un trastorno proliferativo celular puede resultar en una disminución en el número o la proporción de células que tienen una apariencia o morfología anormal. Preferiblemente, luego del tratamiento, el número de células que tienen una apariencia o morfología anormal se reduce en por lo menos 5%, en relación con su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 10%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 20%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 30%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 40%; más preferiblemente, se reduce en por lo menos 50%; aún más preferiblemente, se reduce en por lo menos 50%; y muy preferiblemente, se reduce en por lo menos 75%. Una apariencia o morfología anormal puede medirse por cualquier medio reproducible de medición. Una morfología celular anormal puede medirse por microscopía, v.g., usando un microscopio de cultivo de tejido invertido. Una morfología celular anormal puede tomar la forma de pleiomorfismo nuclear.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "selectivamente" significa tendiente a ocurrir con una mayor frecuencia en una población que en otra población. Las poblaciones comparadas pueden ser poblaciones de células. Preferiblemente, un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, actúa selectivamente sobre una célula cancerígena o precancerosa pero no sobre una

célula normal. Preferiblemente, un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, actúa selectivamente para modular una diana molecular (v.g., c-met) pero no modula significativamente otra diana molecular (v.g., proteína cinasa C). La invención proporciona asimismo un método para inhibir selectivamente la actividad de una enzima, tal como una cinasa. Preferiblemente, ocurre un episodio selectivamente en una población A relativa a una población B si éste ocurre más de dos veces con mayor frecuencia en población A, comparada con población B. Un episodio ocurre selectivamente si éste ocurre más de cinco veces con mayor frecuencia en población A. Un episodio ocurre selectivamente si éste ocurre más de diez veces con mayor frecuencia en población A; más preferiblemente, más de cincuenta veces; aún más preferiblemente, más de 100 veces; y muy preferiblemente, más de 1.000 veces con mayor frecuencia en una población A, comparada con población B. Por ejemplo, se diría que la muerte celular ocurre selectivamente en células cancerígenas si ésta ocurre más de dos veces tan frecuentemente en células cancerígenas comparadas con células normales.

Un compuesto de la presente invención o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede modular la actividad de una diana molecular (v.g., c-met). Modular se refiere a estimular o inhibir una actividad de una diana molecular.

Preferiblemente, un compuesto de la presente invención modula la actividad de una diana molecular si estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en por lo menos 2 veces, en relación con la actividad de la diana molecular, bajo las mismas condiciones pero en ausencia del citado compuesto. Más preferiblemente, un compuesto de la presente invención modula la actividad de una diana molecular si estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en por lo menos 5 veces, por lo menos 10 veces, por lo menos 20 veces, por lo menos 50 veces, por lo menos 100 veces en relación con la actividad de la diana molecular bajo las mismas condiciones pero en ausencia del citado compuesto. La actividad de la diana molecular puede medirse por cualquier medio reproducible. La actividad de la diana molecular puede medirse *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, la actividad de la diana molecular puede medirse *in vitro* por un análisis de actividad enzimática o un análisis de unión de ADN, o la actividad de la diana molecular puede medirse *in vivo* analizándola con respecto a la expresión de un gen reportero.

Un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, no modula

significativamente la actividad de una diana molecular, si la adición del compuesto no estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en más de 10%, en relación con la actividad de la diana molecular bajo las mismas condiciones, pero en ausencia únicamente del citado compuesto.

Tal como se emplea en esta especificación, el término "isozima selectiva" significa la estimulación o inhibición preferencial de una primera isoforma de una enzima en comparación con una segunda isoforma de una enzima (e.g., la estimulación o inhibición preferencial de una cinasa isozima alfa en comparación con una cinasa isozima beta). Preferiblemente, un compuesto de la presente invención demuestra un mínimo de un diferencial de cuatro veces, preferiblemente un diferencial de diez veces, más preferiblemente un diferencial de cincuenta veces, en la dosificación requerida para alcanzar un efecto biológico. Preferiblemente, un compuesto de la presente invención demuestra este diferencial a través de un rango de inhibición, y el diferencial se ejemplifica en la IC₅₀, es decir, una inhibición del 50%, para una diana molecular de interés.

Administrar un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, a una célula o un sujeto necesitado de ello puede resultar en la modulación (es decir, estimulación o inhibición) de una actividad de una cinasa de interés.

La presente invención proporciona métodos para evaluar la actividad biológica de una composición que contiene (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99%, determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka.

En un método, puede utilizarse un análisis basado en actividad enzimática. En un análisis de actividad enzimática específica, la actividad enzimática es de una cinasa. Tal como se emplea en esta especificación, "cinasa" se refiere a una gran clase de enzimas que catalizan la transferencia del γ-fosfato de ATP al grupo

hidroxilo en la cadena lateral de Ser/Thr o Tyr en proteínas y péptidos y están íntimamente implicadas en el control de varias funciones celulares importantes, tal vez muy notablemente: transducción de señales, diferenciación, y proliferación. Se ha calculado que existen alrededor de 2.000 proteína cinasas distintas en el cuerpo humano y, aunque cada una de éstas fosforilan sustratos peptídicos/proteicos particulares, todas ellas fijan el mismo segundo sustrato ATP en una cavidad altamente conservada. Alrededor de 50% de los productos oncogénicos conocidos son proteína tirosina cinasas (PTKs - *protein tyrosine kinases*), y se ha demostrado que su actividad cinasa lleva a la formación de células. Preferiblemente, la cinasa analizada es una tirosina cinasa.

Un cambio en actividad enzimática causado por los compuestos de la presente invención puede medirse en los análisis divulgados. El cambio en actividad enzimática puede caracterizarse por el cambio en la magnitud de fosforilación de ciertos sustratos. Tal como se emplea en esta especificación, "fosforilación" se refiere a la adición de grupos fosfato a un sustrato, incluyendo proteínas y moléculas orgánicas, y juega un papel importante en regular las actividades biológicas de las proteínas. Preferiblemente, la fosforilación analizada y medida implica la adición de grupos fosfato a residuos de tirosina. El sustrato puede ser un péptido o proteína.

El algunos análisis, se emplean reactivos inmunológicos, v.g., anticuerpos y antígenos. La fluorescencia puede utilizarse en la medición de actividad enzimática en algunos análisis. Tal como se emplea en esta especificación, "fluorescencia" se refiere a un proceso mediante el cual una molécula emite un fotón como resultado de absorber un fotón entrante de mayor energía por la misma molécula.

Administrar un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, a una célula o un sujeto necesitado de ello puede resultar en la modulación (es decir, estimulación o inhibición) de una actividad de c-Met. Tal como se emplea en esta especificación, una actividad de c-Met se refiere a cualquier función o actividad biológica que se lleva a cabo por c-Met. Por ejemplo, una función de c-Met incluye fosforilación de proteínas diana corriente abajo. Otras funciones de c-Met incluyen autofosforilación, unión de proteínas adaptadoras tales como Gab-1, Grb-2, Shc, SHP2 y c-Cbl, y activación de *transductores* de señales tales como Ras, Src, PI3K, PLC-γ, STATs, ERK1 y 2 y FAK.

Administrar un compuesto de la presente invención, o su sal

farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, a una célula o un sujeto necesitado de ello puede resultar en modulación (es decir, estimulación o inhibición) de una actividad de ERK 1 o ERK 2, o ambas. Tal como se emplea en esta especificación, una actividad de ERK 1 o ERK 2 se refiere a cualquier función o actividad biológica que se lleva a cabo por ERK 1 o ERK 2. Por ejemplo, una función de ERK 1 o ERK 2 incluye fosforilación de proteínas diana corriente abajo.

Activar se refiere a poner una composición de sustancias (v.g., proteína o ácido nucleico) en un estado apropiado para llevar a cabo una función biológica deseada. Una composición de sustancias capaz de activarse tiene también un estado inactivado. Una composición activada de sustancias puede tener una función biológica inhibitoria o estimuladora, o ambas.

Elevación se refiere a un aumento en una actividad biológica deseada de una composición de sustancias (v.g., una proteína o ácido nucleico). La elevación puede ocurrir a través de un aumento en la concentración de una composición de sustancias.

Tal como se emplea en esta especificación, "una vía de punto de regulación del ciclo celular" se refiere a una vía bioquímica que está implicada en la modulación de un punto de regulación del ciclo celular. Una vía de punto de regulación del ciclo celular puede tener efectos estimuladores o inhibitorios, o ambos, sobre una o más funciones que contienen un punto de regulación del ciclo celular. Una vía de punto de regulación del ciclo celular consta de por lo menos dos composiciones de sustancias, preferiblemente proteínas, dos de las cuales contribuyen a la modulación de un punto de regulación del ciclo celular. Una vía de punto de regulación del ciclo celular puede activarse por la activación de uno o más miembros de la vía de punto de regulación del ciclo celular. Preferiblemente, una vía de punto de regulación del ciclo celular es una vía de señalización bioquímica.

Tal como se emplea en esta especificación, "regulador de punto de regulación del ciclo celular" se refiere a una composición de sustancias que puede funcionar, por lo menos en parte, en la modulación de un punto de regulación del ciclo celular. Un regulador de punto de regulación del ciclo celular puede tener efectos estimuladores o inhibitorios, o ambos, sobre una o más funciones que contienen un punto de regulación del ciclo celular. Un regulador de punto de regulación del ciclo celular puede ser una proteína o puede no ser una proteína.

El tratamiento de cáncer o un trastorno proliferativo celular puede resultar en muerte celular, y preferiblemente, la muerte celular se traduce en una disminución de por lo menos 10% en el número de células en una población. Más preferiblemente, la muerte celular significa una disminución de por lo menos 20%; más preferiblemente, una disminución de por lo menos 30%; más preferiblemente, una disminución de por lo menos 40%; más preferiblemente, una disminución de por lo menos 50%; muy preferiblemente, una disminución de por lo menos 75%. El número de células en una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Un número de células en una población puede medirse por clasificación de células activada por fluorescencia (FACS - *fluorescence activated cell sorting*), microscopía de inmunofluorescencia y microscopía de la luz. Métodos de medir la muerte celular se ilustran en Li *et al.*, (2003) *Proc Natl AcadSci USA*. 100(5): 2674-8. En un aspecto, la muerte celular ocurre por apoptosis.

Preferiblemente, una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato no es significativamente citotóxica a células normales. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto no es significativamente citotóxica a células normales si la administración del compuesto en una cantidad terapéuticamente efectiva no induce muerte celular en más de 10% de células normales. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto no afecta significativamente la viabilidad de células normales si la administración del compuesto en una cantidad terapéuticamente efectiva no induce muerte celular en más de 10% de células normales. En un aspecto, la muerte celular ocurre por apoptosis.

Contactar una célula con un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede inducir o activar la muerte celular selectivamente en células cancerígenas. Administrar a un sujeto necesitado de ello un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede inducir o activar la muerte celular selectivamente en células cancerígenas. Contactar una célula con un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede inducir la muerte celular selectivamente en una o más células afectadas por un trastorno proliferativo celular. Preferiblemente, administrar a un sujeto necesitado de ello un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, induce la muerte celular selectivamente en una o más células afectadas por un trastorno proliferativo celular.

La presente invención se refiere a un método de tratar o prevenir cáncer, administrando un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato a un sujeto necesitado de ello, en donde la administración del compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato resulta en uno o más de los siguientes: acumulación de células en la fase G1 y/o S del ciclo celular, citotoxicidad vía muerte celular en células cancerígenas sin una cantidad significativa de muerte celular en células normales, actividad antitumoral en animales con un índice terapéutico de por lo menos 2, y activación de un punto de regulación del ciclo celular. Tal como se emplea en esta especificación, "índice terapéutico" es la dosis máxima tolerada, dividida por la dosis eficaz.

Una persona versada en el arte puede remitirse a textos de referencia general para descripciones detalladas de técnicas conocidas, discutidas en esta especificación, o técnicas equivalentes. Estos textos incluyen Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (3d ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000); Coligan *et al.*, *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna *et al.*, *Current Protocols in Pharmacology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl *et al.*, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (1975), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990). Por supuesto, estos textos pueden consultarse igualmente al poner en práctica o usar un aspecto de la invención.

Tal como se emplea en esta especificación, "terapia de combinación" o "terapia conjunta" incluye la administración de un compuesto de la presente invención y por lo menos un segundo agente como parte de un régimen de tratamiento específico, previsto para proporcionar el efecto benéfico de la acción conjunta de estos agentes terapéuticos. El efecto benéfico de la combinación incluye, pero no se limita a, una acción conjunta farmacocinética o farmacodinámica resultante de la combinación de agentes terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos en combinación se lleva a cabo generalmente durante un período definido de tiempo (usualmente minutos, horas, días o semanas, dependiendo de la combinación seleccionada). "Terapia de combinación" puede pretender, pero generalmente no lo pretende, abarcar la administración de dos o más de estos agentes terapéuticos como parte de regímenes de monoterapia separados que, incidental y arbitrariamente, resultan en las combinaciones de la presente invención.

"Terapia de combinación" pretende abarcar la administración de estos agentes terapéuticos en una manera secuencial, en donde cada agente terapéutico se administra en un tiempo diferente, así como la administración de estos agentes terapéuticos, o por lo menos dos de los agentes terapéuticos, en una manera sustancialmente simultánea. La administración sustancialmente simultánea puede realizarse, por ejemplo, administrando al sujeto una cápsula individual con una relación fija de cada agente terapéutico o en múltiples cápsulas individuales para cada uno de los agentes terapéuticos. La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico puede efectuarse por cualquier vía apropiada incluyendo, pero no limitadas a, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares, y absorción directa a través de los tejidos de la membrana mucosa. Los agentes terapéuticos pueden administrarse por la misma vía o por vías diferentes. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada puede administrarse por inyección intravenosa mientras los otros agentes terapéuticos de la combinación pueden administrarse oralmente. Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos pueden administrarse oralmente o todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por inyección intravenosa. La secuencia en la cual se administran los agentes terapéuticos no es específicamente crítica.

"Terapia de combinación" abarca asimismo la administración de los agentes terapéuticos, como se describe anteriormente, en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (v.g., cirugía o tratamiento de radiación). Donde la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico puede conducirse en cualquier momento apropiado, siempre que se consiga un efecto benéfico de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto benéfico se obtiene aún cuando el tratamiento no farmacológico se retire temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, tal vez por días o incluso semanas.

Un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede administrarse en combinación con un segundo agente quimioterapéutico. El segundo agente quimioterapéutico puede ser un taxano, un inhibidor de aromatasas, una antraciclina, un medicamento que se dirige a los microtúbulos, un medicamento tóxico a la topoisomerasa, un anticuerpo monoclonal o policlonal dirigido a una diana, un inhibidor de una diana molecular o enzima (v.g., un inhibidor de cinasa), o un medicamento análogo de citidina. Preferiblemente, el agente quimioterapéutico puede ser, pero no se restringe a, tamoxifeno, raloxifeno,

anastrozol, exemestano, letrozol, HERCEPTIN® (trastuzumab), GLEEVEC® (imatinib), TAXOL® (paclitaxel), ciclofosfamida, lovastatina, minosina, araC, 5-fluorouracilo (5-FU), metotrexato (MTX), TAXOTERE® (docetaxel), ZOLADEX® (goserelina), vincristina, vinblastina, nocodazol, tenipósido, etopósido, GEMZAR® (gemcitabina), epotilona, navelbina, camptotecina, daunonibicina, dactinomicina, mitoxantrona, amsacrina, doxorubicina (adriamicina), epirubicina o idarrubicina. El segundo agente quimioterapéutico puede ser una citocina tal como G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos). Un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede administrarse en combinación con terapia de radiación. Un compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede administrarse conjuntamente con combinaciones de quimioterapia estándar tales como, pero no restringidas a, CMF (ciclofosfamida, metotrexato y 5-fluorouracilo), CAF (ciclofosfamida, adriamicina y 5-fluorouracilo), AC (adriamicina y ciclofosfamida), FEC (5-fluorouracilo, epirubicina, y ciclofosfamida), ACT o ATC (adriamicina, ciclofosfamida, y paclitaxel), o CMFP (ciclofosfamida, metotrexato, 5-fluorouracilo y prednisona).

Un compuesto de la invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, metabolito, polimorfo o solvato, puede administrarse con un inhibidor de una enzima, tal como una cinasa de receptor o no receptor. Las cinasas de receptor o no receptor de la invención son, por ejemplo, tirosina cinasas o serina/treonina cinasas. Los inhibidores de cinasa de la invención son pequeñas moléculas, ácidos polinucleicos, polipéptidos, o anticuerpos.

Tirosina cinasas ejemplares incluyen, pero no se limitan a, Bevacizumab (actúa selectivamente sobre VEGF), BIBW 2992 (actúa selectivamente sobre EGFR y Erb2), Cetuximab/Erbitux (actúa selectivamente sobre Erb1), Imatinib/Gleevec (actúa selectivamente sobre Bcr-Abl), Trastuzumab (actúa selectivamente sobre Erb2), Gefitinib/Iressa (actúa selectivamente sobre EGFR), Ranibizumab (actúa selectivamente sobre VEGF), Pegaptanib (actúa selectivamente sobre VEGF), Erlotinib/Tarceva (actúa selectivamente sobre Erb1), Nilotinib (actúa selectivamente sobre Bcr-Abl), Lapatinib (actúa selectivamente sobre Erb1 y Erb2/Her2), GW-572016/lapatinib ditosilato (actúa selectivamente sobre HER2/Erb2), Panitumumab/Vectibix (actúa selectivamente sobre EGFR), Vandetinib (actúa selectivamente sobre RET/VEGFR), E7080 (actúa selectivamente sobre dianas múltiples incluyendo RET y VEGFR), Herceptina (actúa selectivamente sobre HER2/Erb2), PKI-166 (actúa selectivamente sobre EGFR), Canertinib/CI-1033 (actúa selectivamente sobre EGFR), Sunitinib/SU-

11464/Sutent (actúa selectivamente sobre EGFR y FLT3), Matuzumab/Emd7200 (actúa selectivamente sobre EGFR), EKB-569 (actúa selectivamente sobre EGFR), Zd6474 (actúa selectivamente sobre EGFR y VEGFR), PKC-412 (actúa selectivamente sobre VEGFR y FLT3), Vatalanib/Ptk787/ZK222584 (actúa selectivamente sobre VEGFR), CEP-701 (actúa selectivamente sobre FLT3), SU5614 (actúa selectivamente sobre FLT3), MLN518 (actúa selectivamente sobre FLT3), XL999 (actúa selectivamente sobre FLT3), VX-322 (actúa selectivamente sobre FLT3), Azd0530 (actúa selectivamente sobre SRC), BMS-354825 (actúa selectivamente sobre SRC), SKI-606 (actúa selectivamente sobre SRC), CP-690 (actúa selectivamente sobre JAK), AG-490 (actúa selectivamente sobre JAK), WHI-P154 (actúa selectivamente sobre JAK), WHI-P131 (actúa selectivamente sobre JAK), Sorafmib/Nexavar (actúa selectivamente sobre RAF cinasa, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR- B, KIT, FLT-3, y RET), Dasatinib/Sprycel (BCR/ABL y Src), AC-220 (actúa selectivamente sobre Flt3), AC-480 (actúa selectivamente sobre todas las proteínas HER, "panHER"), Motesanib difosfato (actúa selectivamente sobre VEGF 1-3, PDGFR, y c-kit), Denosumab (actúa selectivamente sobre RANKL, inhibe SRC), AMG888 (actúa selectivamente sobre HER3), y AP24534 (actúa selectivamente sobre dianas múltiples incluyendo Flt3).

Serina/treonina ejemplares incluyen, pero no se limitan a, Rapamune (actúa selectivamente sobre mTOR/FRAP1), Deforolimus (actúa selectivamente sobre mTOR), Certican/Everolimus (actúa selectivamente sobre mTOR/FRAP1), AP23573 (actúa selectivamente sobre mTOR/FRAP1), Eril/Fasudil clorhidrato (actúa selectivamente sobre RHO), Flavopiridol (actúa selectivamente sobre CDK), Seliciclib/CYC202/Roscovitina (actúa selectivamente sobre CDK), SNS-032/BMS-387032 (actúa selectivamente sobre CDK), Ruboxistaurina (actúa selectivamente sobre PKC), Pkc412 (actúa selectivamente sobre PKC), Briostatina (actúa selectivamente sobre PKC), KAI-9803 (actúa selectivamente sobre PKC), SF1126 (actúa selectivamente sobre PI3K), VX-680 (actúa selectivamente sobre Aurora cinasa), Azd1 152 (actúa selectivamente sobre Aurora cinasa), Arry-142886/AZD-6244 (actúa selectivamente sobre MAP/MEK), SCIO-469 (actúa selectivamente sobre MAP/MEK), GW681323 (actúa selectivamente sobre MAP/MEK), CC-401 (actúa selectivamente sobre JNK), CEP-1347 (actúa selectivamente sobre JNK), y PD 332991 (actúa selectivamente sobre CDK).

Terapias combinatorias preferidas incluyen, pero no se limitan a, (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99%, determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable;

(b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, administrados en combinación con Erlotinib, (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99%, determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables administrados en combinación con gemcitabina, y (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99%, determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables administrados en combinación con sorafinib. En ciertas modalidades, un sujeto o paciente recibe una combinación de Erlotinib, administrado como 150 mg una vez diariamente, en combinación con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, administrada como 360 mg dos veces diariamente.

En otras modalidades, un sujeto o paciente recibe una combinación de gemcitabina, administrada por infusión intravenosa de 1.000 mg/m² durante 30 minutos una vez semanalmente, en combinación con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, administrada como 360 mg por vía oral dos veces al día o 120 mg por vía oral dos veces al día continuamente. En otra modalidad, un sujeto o paciente recibe una combinación de sorafinib, administrado como 200 mg dos veces diariamente, en combinación con *trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, administrada como 360 mg dos veces diariamente. Posologías preferidas para (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona incluyen, pero no se limitan a, una cápsula y un comprimido.

Composiciones Farmacéuticas

La presente invención proporciona asimismo composiciones farmacéuticas que contienen (a) (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99%, determinada por HPLC, y que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y un portador farmacéuticamente aceptable; (b) un polimorfo de forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables; o (c) un polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ empleando radiación Cu Ka, y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene los compuestos de la presente invención en una presentación apropiada para administración a un sujeto. En una modalidad, la composición farmacéutica es a granel o está en una presentación farmacéutica unitaria. La presentación farmacéutica unitaria es cualquiera de una variedad de presentaciones, incluyendo, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, un comprimido, una bomba individual en un inhalador en aerosol o un frasquito. La cantidad de ingrediente activo (v.g., una formulación del compuesto divulgado o su sal, hidrato, solvato o isómero) en una dosis unitaria de la composición es una cantidad efectiva y varía

de acuerdo con el tratamiento particular involucrado. Una persona versada en el arte entenderá que a veces es necesario hacer cambios rutinarios a la posología dependiendo de la edad y estado del paciente. La posología dependerá igualmente de la vía de administración. Se contempla una variedad de vías, incluidas la vía oral, pulmonar, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, inhalacional, bucal, sublingual, intrapleural, intratecal, intranasal, y similares. Presentaciones farmacéuticas para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, atomizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. En una modalidad, el compuesto activo se mezcla bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualesquiera preservantes, reguladores de pH o propelentes que se requieran.

Tal como se emplea en esta especificación, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones, portadores, y/o presentaciones farmacéuticas que, dentro del ámbito del sano juicio médico, son apropiadas para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, equiparable con una relación riesgo/beneficio razonable.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en preparar una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni biológica ni en otra forma indeseable, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario así como uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se emplea en la especificación y las reivindicaciones, incluye tanto uno como más de un excipiente similar.

Una composición farmacéutica de la invención se formula para ser compatible con su vía prevista de administración. Ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral, (v.g., intravenosa, intradérmica, subcutánea), oral (v.g., inhalación), transdérmica (tópica), y transmucosal. Soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica, o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites que no se evaporan fácilmente, polietilen glicoles, glicerina, propilen glicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminatetraacético; reguladores de pH tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de tonicidad tales como cloruro de sodio o

dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede envasarse en ampollas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiples, elaborados de vidrio o plástico.

Un compuesto o composición farmacéutica de la invención puede administrarse a un sujeto en muchos de los métodos bien conocidos, usados actualmente para tratamiento quimioterapéutico. Por ejemplo, para tratamiento de cánceres, un compuesto de la invención puede inyectarse directamente en tumores, inyectarse en el torrente sanguíneo o cavidades del cuerpo o tomarse oralmente o aplicarse a través de la piel con parches. La dosis elegida debe ser suficiente para constituir un tratamiento efectivo, pero no tan alta como para causar efectos secundarios inaceptables. Preferiblemente el estado de la condición patológica (v.g., cáncer, pre-cáncer, y similares) y la salud del paciente deben monitorearse de cerca durante y por un período razonable luego del tratamiento.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva," tal como se emplea en esta especificación, se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico para tratar, mejorar, o prevenir una enfermedad o afección identificada, o para exhibir un efecto inhibitorio o terapéutico detectable. El efecto puede detectarse por cualquier método de análisis conocido en el arte. La cantidad efectiva precisa para un sujeto dependerá del peso corporal del sujeto, tamaño, y salud; la índole y extensión de la afección; y el producto terapéutico o combinación de productos terapéuticos seleccionados para administración. Cantidades terapéuticamente efectivas para una situación dada pueden determinarse por experimentación rutinaria que se encuentra dentro de la habilidad y juicio del médico. En un aspecto preferido, la enfermedad o afección que se va a tratar es cáncer. En otro aspecto, la enfermedad o afección que se va a tratar es un trastorno proliferativo celular.

Para cualquier compuesto, la cantidad terapéuticamente efectiva puede calcularse inicialmente ya sea en análisis de cultivo celular, v.g., de células neoplásicas, o en modelos animales, usualmente ratas, ratones, conejos, perros, o cerdos. El modelo animal puede usarse igualmente para determinar el rango de concentración apropiado y la vía de administración. Tal información puede usarse entonces para determinar dosis útiles y las vías de administración en humanos. La eficacia terapéutica/profiláctica y la toxicidad pueden determinarse por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos de células o animales experimentales, v.g., ED₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en 50% de la población) y LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población). La relación de la

dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y éste puede expresarse como la relación LD_{50}/ED_{50} . Se prefieren las composiciones farmacéuticas que exhiben índices terapéuticos elevados. La posología puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma farmacéutica empleada, la sensibilidad del paciente, y la vía de administración.

La posología y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes del (de los) agente(s) activo(s) o para mantener el efecto deseado. Los factores que pueden tomarse en cuenta incluyen la gravedad del estado patológico, la salud general del sujeto, la edad, el peso, y el género del sujeto, la dieta, tiempo y frecuencia de la administración, la combinación (combinaciones) del medicamento, las sensibilidades de reacción, y la tolerancia/respuesta a la terapia. Composiciones de efecto prolongado pueden administrarse diariamente, cada 3 a 4 días, cada semana, o una vez cada dos semanas, dependiendo de la semivida y tasa de depuración de la formulación particular.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos activos de la presente invención pueden fabricarse en una manera que es generalmente conocida, v.g., por medios convencionales como procesos de mezclar, disolver, granular, fabricar grageas, pulverizar, emulsionar, encapsular, atrapar, o liofilizar. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una manera convencional usando uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, los cuales incluyen excipientes y/o auxiliares que facilitan el procesamiento de compuestos activos en preparaciones que pueden emplearse farmacéuticamente. Por supuesto, la formulación apropiada depende de la vía de administración seleccionada.

Composiciones farmacéuticas apropiadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles o dispersiones. Para administración intravenosa, portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina amortiguada con fosfato (PBS - *phosphate buffered saline*). En todos los casos, la composición tiene que ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil jeringabilidad. Tiene que ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y tiene que preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilen glicol, y polietilen glicol líquido, y similares), y mezclas apropiadas de los anteriores. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina,

mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse mediante varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, y/o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede producirse incluyendo en la composición un agente que retarda la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto activo, en la cantidad requerida, en un solvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril, que contiene un medio de dispersión básico, y los demás ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, métodos de preparación son secamiento en vacío y secamiento por congelamiento que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente filtrada por esterilización.

Las composiciones orales incluyen generalmente un diluyente inerte o un portador digerible, farmacéuticamente aceptable. Pueden envasarse en cápsulas de gelatina o compactarse en comprimidos. Para el propósito de la administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en la forma de comprimidos, pastillas para chupar, o cápsulas. Las composiciones orales pueden prepararse asimismo usando un portador fluido para uso como un enjuague bucal, en donde el compuesto en el portador fluido se aplica oralmente y se hacen buches y se escupe o se traga. Agentes de fijación farmacéuticamente compatibles y/o materiales coadyuvantes pueden incluirse como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas para chupar y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón, almidón pregelatinizado, o lactosa, un agente desagregante tal como croscarmelosa sódica, glicolato de almidón sódico, almidón carboximetílico sódico, ácido alginico, Primogel, crospovidona, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio, ácido esteárico, fumarato estearílico sódico, o Sterotes; un deslizante tal como dióxido de sílice coloidal; una agente edulcorante tal como

sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo, o sabor a naranja.

Para administración por inhalación, Los compuestos se administran en la forma de un atomizador de aerosol de un recipiente presurizado o dispensador, que contiene un propelente apropiado, v.g., hidrofluoroalcanos, clorofluorocarbonos, anhídrido carbónico, o un nebulizador.

La administración sistémica puede efectuarse asimismo por medios transmucosales o transdérmicos. Penetrantes apropiados a la barrera que se va a permear se utilizan en la formulación para administración transmucosal o transdérmica. Tales penetrantes son generalmente conocidos en el arte, e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosal, detergentes, sales biliares, y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosal puede llevarse a cabo mediante el uso de atomizadores nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en ungüentos, pomadas, geles, o cremas, como se conocen generalmente en el arte.

Los compuestos activos pueden prepararse con portadores farmacéuticamente aceptables que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biocompatibles, biodegradables, tales como etilenvinilacetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico o mezclas o copolímeros de poliésteres. Métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes a las personas versadas en el arte. Los materiales pueden obtenerse igualmente en el comercio de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Suspensiones liposómicas (incluyendo liposomas, dirigidos a células infectadas, con anticuerpos monoclonales contra antígenos virales) pueden usarse asimismo como portadores farmacéuticamente aceptables. Éstas pueden prepararse de acuerdo con los métodos conocidos por las personas versadas en el arte, por ejemplo, como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4,522,811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en una forma de dosis unitaria para comodidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de dosis unitaria, tal como se emplea en esta especificación, se refiere a unidades físicamente discretas, apropiadas como dosis unitarias para el sujeto que se va a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto, calculada para producir el efecto terapéutico deseado en

asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las presentaciones de dosis unitarias de la invención están dictadas por, y dependen directamente de, las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular a conseguir.

En aplicaciones terapéuticas, las dosis de las composiciones farmacéuticas usadas de acuerdo con la invención varían dependiendo del agente, la edad, el peso, y el estado clínico del paciente destinatario, y la experiencia y juicio del médico o profesional que administra la terapia, entre otros factores, que afectan la dosificación seleccionada. Generalmente, la dosis debe ser suficiente para desacelerar y, preferiblemente, disminuir, el desarrollo de tumores y, además, preferiblemente suficiente para causar la completa regresión del cáncer. Las dosis pueden variar desde alrededor de 0,01 mg/kg por día a alrededor de 5.000 mg/kg por día. En aspectos preferidos, las dosis pueden variar desde alrededor de 1 mg/kg por día a alrededor de 1.000 mg/kg por día. En un aspecto, la dosis estará en el rango de alrededor de 0,1 mg/día a alrededor de 50 g/día; alrededor de 0,1 mg/día a alrededor de 25 g/día; alrededor de 0,1 mg/día a alrededor de 10 g/día; alrededor de 0,1 mg a alrededor de 3 g/día; o alrededor de 0,1 mg a alrededor de 1 g/día, en dosis individuales, divididas, o continuas (dosis que puede ajustarse para el peso del paciente en kg, área de superficie corporal en m², y edad en años). En aplicaciones preferidas, la dosis puede ser aproximadamente 400 miligramos dos veces diariamente (b.i.d.). En aplicaciones específicas, la dosis es 360 miligramos (mg) dos veces diariamente (b.i.d.). Más preferiblemente, la presentación farmacéutica es una cápsula o comprimido y se administra como dos o tres cápsulas o comprimidos con una dosis combinada de 360 miligramos (mg). Esta presentación farmacéutica se administra dos veces diariamente para una dosis total de 720 miligramos (mg). Una cantidad efectiva de un agente farmacéutico es aquella que proporciona una mejoría objetivamente identificable, apreciada por el médico u otro observador calificado. Por ejemplo, la regresión de un tumor en un paciente puede medirse con referencia al diámetro de un tumor. La disminución en el diámetro de un tumor indica regresión. La regresión se indica igualmente por la no recurrencia de tumores luego detener el tratamiento. Tal como se emplea en esta especificación, el término "manera efectiva de dosificación" se refiere a la cantidad de un compuesto activo para producir el efecto biológico deseado en un sujeto o célula.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, empaque, o dispensador junto con instrucciones para su administración.

Los compuestos de la presente invención son capaces de formar

adicionalmente sales. Todas estas formas están también contempladas dentro del ámbito de la invención reivindicada.

Tal como se emplea en esta especificación, "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados de los compuestos de la presente invención en donde el compuesto precursor se modifica preparando sales ácidas o básicas de los mismos. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos orgánicos o minerales de residuos básicos tales como aminas, sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto precursor, formado, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen, pero no se limitan a, las derivadas de ácidos orgánicos e inorgánicos seleccionados de ácidos 2-acetoxibenzoico, 2-hidroxietanosulfónico, acético, ascórbico, bencenosulfónico, benzoico, bicarbónico, carbónico, cítrico, edético, etanodisulfónico, 1,2-etanosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, glicol arsanílico, hexil-resorcínico, hidrabámico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, hidroximaleico, hidroxinaftoico, isetiónico, láctico, lactobiónico, laurilsulfónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, napsílico, nítrico, oxálico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, poligalacturónico, propiónico, salicílico, esteárico, subacético, succínico, sulfámico, sulfanílico, sulfúrico, tánico, tartárico, toluenosulfónico, y aminoácidos de ocurrencia común, v.g., glicina, alanina, fenilalanina, arginina, etc.

Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo-[2.2.2]-oct-2-en-1-carboxílico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido mucónico, y similares. La presente invención abarca además sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto precursor, o bien se reemplaza por un ión de metal, v.g., un ión de metal alcalino, un ión de metal alcalinotérreo, o un ión de aluminio; o se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, y similares.

Debe entenderse que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de solventes (solvatos) o formas de cristales (polimorfos), como se definen en esta especificación, de la misma sal.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse asimismo como ésteres, por ejemplo, ésteres farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, un grupo funcional ácido carboxílico en un compuesto puede convertirse en su éster correspondiente, v.g., un éster metílico, etílico u otro éster. Además, un grupo alcohol en un compuesto puede convertirse en su éster correspondiente, v.g., un acetato, propionato u otro éster.

Los compuestos of la presente invención pueden prepararse asimismo como profármacos, por ejemplo, profármacos farmacéuticamente aceptables. Los términos "pro-fármaco" y "profármaco" se usan indistintamente en esta especificación y se refieren a cualquier compuesto que libera un medicamento precursor activo *in vivo*. Puesto que los profármacos son conocidos por mejorar numerosas cualidades deseables de los productos farmacéuticos (v.g., solubilidad, biodisponibilidad, fabricación, etc.), los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma de profármaco. Por consiguiente, la presente invención pretende cubrir profármacos de los compuestos actualmente reivindicados, métodos de administrarlos y composiciones que los contienen. "Profármacos" tienen como finalidad incluir cualesquiera portadores covalentemente enlazados que liberan un medicamento precursor activo de la presente invención *in vivo* cuando tal profármaco se administra a un sujeto. Profármacos en la presente invención se preparan modificando grupos funcionales presentes en el compuesto de tal manera que las modificaciones se escindan, ya sea en manipulación rutinaria o *in vivo*, en el compuesto precursor. Los profármacos incluyen compuestos de la presente invención en donde un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxi o carbonilo se enlaza a cualquier grupo que pueda escindirse *in vivo* para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre, sulfhidrilo libre, carboxi libre o carbonilo libre, respectivamente.

Ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, ésteres (v.g., acetato, dialquilaminoacetatos, hidroxí, fosfatos, sulfatos y derivados de benzoato) y carbamatos (v.g., N,N-dimetilaminocarbonilo) de grupos funcionales hidroxilo, ésteres (v.g., ésteres etílicos, ésteres de morfolinoetanol) de grupos funcionales carboxilo, derivados de N-acilo (v.g., N-acetilo), bases N de Mannich, bases de Schiff y enaminonas de grupos funcionales amino, oximas, acetales, cetales y enol ésteres de grupos funcionales cetona y aldehído en compuestos de la invención, y similares, véase Bundegaard, H., *Design of Prodrugs*, páginas 1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

Los compuestos, o sus sales farmacéuticamente aceptables, ésteres o

profármacos, se administran por vía oral, nasal, transdérmica, pulmonar, inhalacional, bucal, sublingual, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intravenosa, rectal, intrapleural, intratecal y parenteral. En una modalidad, el compuesto se administra oralmente. Una persona versada en el arte reconocerá las ventajas de ciertas vías de administración.

El régimen posológico que utilice los compuestos se selecciona de acuerdo con una variedad de factores incluyendo tipo, especies, edad, peso, sexo y estado médico del paciente; la gravedad de la enfermedad que se va a tratar; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto particular o su sal empleados. Un médico o veterinario de versación ordinaria puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva del fármaco requerido para prevenir, contrarrestar o detener la evolución de la enfermedad.

Técnicas para la formulación y administración de los compuestos divulgados de la invención pueden encontrarse en *Remington: the Science and Practice of Pharmacy*, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). En una modalidad, los compuestos descritos en esta especificación, y sus sales farmacéuticamente aceptables, se usan en preparados farmacéuticos en combinación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Portadores apropiados farmacéuticamente aceptables incluyen materiales de relleno sólidos inertes, o diluyentes y soluciones orgánicas o acuosas estériles. Los compuestos estarán presentes en tales composiciones farmacéuticas en cantidades suficientes para proporcionar la cantidad posológica deseada en el rango descrito en esta especificación.

Todos los porcentajes y relaciones empleados en esta especificación, a menos que se indique lo contrario, son en peso.

Otras características y ventajas de la presente invención son evidentes a partir de los diferentes ejemplos. Los ejemplos provistos ilustran diferentes componentes y la metodología útiles en la puesta en práctica de la presente invención. Los ejemplos no limitan la invención reivindicada. Basándose en la presente divulgación, la persona experta puede identificar y emplear otros componentes y metodología útiles para la puesta en práctica de la presente invención.

EJEMPLOS

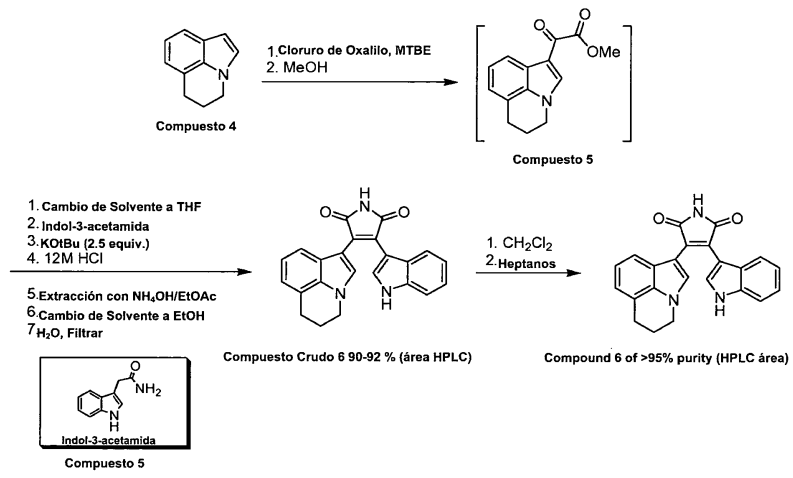
Ejemplo 1.

El presente ejemplo describe la preparación de 3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrol-2,5-diona.

Lilolidina [CAS 102280-97-7] (70 kg) (**Compuesto 4** en Esquema I) se cargó en un tanque de reactor seco y apropiadamente limpio, seguido por metil *terc*-butil éter (MTBE) (375 kg). La lilolidina puede adquirirse en el comercio o prepararse como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos No. 2006/0223760. El lote resultante se agitó durante un mínimo de 10 minutos a 15-25 °C. Una solución de cloruro de oxalilo (56,6 kg) en MTBE (370 kg) se preparó en un tanque separado. La solución de lilolidina se agregó entonces a la solución de cloruro de oxalilo a una velocidad que mantuviera la temperatura por debajo de 32 °C. El tanque se lavó con MTBE adicional (162 kg) y se agregó a la mezcla de reacción. El lote se agitó a 15-32 °C durante un mínimo de dos horas antes del análisis por HPLC. Cuando se determinó que la reacción había concluido, se agregó metanol (90 kg), y el lote se agitó durante un mínimo de dos horas. Cuando, mediante análisis HPLC, se determinó que la reacción había concluido, el lote se destiló a aproximadamente 80 galones. No es necesario aislar el intermedio éster metílico de ácido 5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il) oxoacético (**Compuesto 5** en el Esquema I). Se agregó tetrahidrofurano (THF) (840 kg) al lote y el volumen se redujo de nuevo a aproximadamente 80 galones mediante destilación. Se continuó este proceso de cambio de solvente hasta que la cantidad de MTBE presente en el lote fue <1% en peso. Se cargó un nuevo tanque con indol-3-acetamida [CAS 879-37-8] (61,3 kg) (**Compuesto 5a** en Esquema I), seguida por THF (840 kg). La solución resultante se cargó entonces en el lote a una velocidad tal que la temperatura se mantuviera a 15-25 °C. El tanque que contenía la solución de indol-3-acetamida se enjuagó con THF (140 kg), y el enjuague se agregó al lote. El lote vacío se cargó entonces con una solución de *terc*-butóxido de potasio (1,6 M en THF, 581 kg) y THF (350 kg). La solución se agregó entonces al lote, y la solución resultante se agitó a 20-32 °C durante un mínimo de tres horas. Cuando el material de partida se había consumido, según se confirmó por análisis HPLC, se agregó HCl acuoso (*conc.*, 273 kg) a tal velocidad que se mantuviera la temperatura por debajo de 50 °C. El lote se agitó entonces a 40-50 °C durante un mínimo de 30 minutos.

Cuando, mediante análisis HPLC, se determinó que la reacción había concluido, se agregó solución de hidróxido de amonio acuoso (*conc.*), manteniendo al mismo tiempo la temperatura de reacción por debajo de 40 °C, hasta que el pH de la mezcla fue 9-10. Luego de la adición de acetato de etilo (EtOAc) (462 kg) y agitación del lote, las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera (182 kg de NaCl y 1.022 kg de agua). La solución orgánica

resultante se destiló a aproximadamente una tercera parte del volumen de partida. Se agregó etanol (2B, 1.120 kg) y se continuó la destilación para reducir el volumen del lote a aproximadamente 240 galones. Nuevamente se agregó etanol (2B, 1.120 kg), y el volumen se redujo a 240 galones. Seguidamente se agregó agua (1.400 kg) al lote para inducir la precipitación del producto. El lote se agitó durante un mínimo de dos horas, y los sólidos se aislaron por filtración. Los sólidos se absorbieron entonces en diclorometano (DCM) (840 kg), y se agregaron heptanos (442 kg) para purificar el producto. Luego de la agitación del lote durante por lo menos dos horas, se aisló el producto por filtración. Después de acondicionar sobre el filtro, se aislaron aproximadamente 115 kg (88%) de 3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrol-2,5-diona (**Compuesto 6** en el Esquema I) como un polvo rojo. Esta conversión de **Compuesto 4** en **Compuesto 6** se muestra en el Esquema II.



Esquema II

Ejemplo 2.

El presente ejemplo describe la preparación de ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Hidróxido de paladio (20% en peso de Pd sobre carbón, 11,5 kg) se cargó en una tanque de reacción preparado apropiadamente. Se agregó THF (340 kg) para producir una lechada, y el catalizador se pre-redujo con hidrógeno (50-75 psi). **Compuesto 6** (115 kg) se cargó en un tanque vacío, seguido por THF (353 kg). La mezcla resultante se agitó hasta completar la disolución. La solución de **Compuesto 6** se transfirió entonces a la lechada del catalizador. Una solución de *terc*-butóxido de potasio (1,6 M en THF, 36 kg) se cargó en un reactor vacío, seguido por THF (21 kg). Esta solución resultante se transfirió igualmente a la mezcla de reacción, seguida por un enjuague adicional con THF (340 kg). El lote se calentó entonces a 45-55 °C bajo 65-80 psi de hidrógeno. No es necesario aislar el intermedio *cis* racemato (+)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidini-2,5-diona (**Compuesto 7** en el Esquema I).

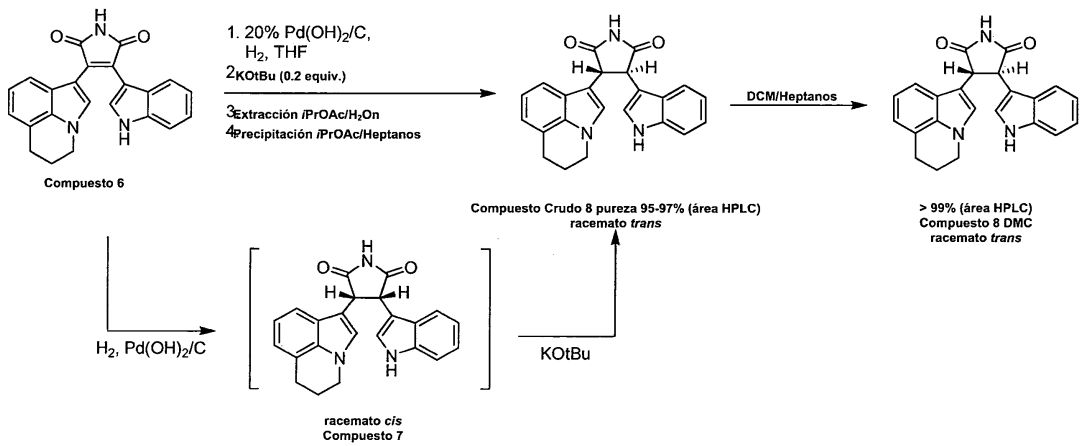
Cuando, mediante análisis HPLC, se determinó que la reacción había concluido, el lote se filtró a través de celita para eliminar el catalizador y se diluyó con isopropilacetato (*i*PrOAc) (810 kg). La solución orgánica se lavó con HCl acuoso (28 kg HCl *conc.*, 290 kg de agua). Este proceso se repitió una segunda vez. La solución orgánica se lavó entonces con salmuera (580 kg) antes de concentrarse a aproximadamente 300 galones mediante destilación. Se agregó *i*PrOAc (1.690 kg), y el lote se destiló a aproximadamente 400 galones. El proceso de destilación se repitió agregando *i*PrOAc (1.000 kg) hasta que el contenido de THF era < 2% en peso de la solución. Se agregaron entonces heptanos (2.000 kg) para inducir la precipitación del producto. La ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona cruda (**Compuesto 8** en el esquema I) se aisló por filtración y se acondicionó para proporcionar 111 kg (95%) con una pureza HPLC de ~96%. Este material contenía asimismo 1,7% *i*PrOAc y 6,3% heptano. Mediante pruebas de "uso" a escala de laboratorio se confirmó que este material era de pureza suficiente para proseguir con la preparación de la ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona diclorometano (DCM) y resolución por cromatografía multicolumna (MCC) o para uso directo en la cristalización de la sal diastereomérica, como se describe con más detalle en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 3.

El presente ejemplo describe la preparación de (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona DCM.

Se prefiere purificar químicamente el **Compuesto 8** mediante la producción de (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona DCM cristalina (**Compuesto 8 DCM** en el Esquema I) antes del proceso de resolución enantiomérica mediante MCC.

En un ejemplo, el tanque de reacción se cargó con metanol (125 kg) y **Compuesto 8** (52,5 kg) y la mezcla resultante se calentó a 55-65 °C. Se cargó DCM (557 kg) en un reactor limpio. La solución de **Compuesto 8** se transfirió entonces al reactor que contenía DCM a través de un filtro en línea. El reactor se enjuagó con DCM (134 kg), el cual se transfirió entonces a través del filtro al reactor que contenía la mezcla de reacción. El lote se agitó durante un mínimo de 30 minutos antes de la introducción de semillas de **Compuesto 8 DCM** (0,1 kg). El lote se agitó durante por lo menos cuatro horas y luego se muestreó para calcular la magnitud de la cristalización. Cuando la concentración del filtrado de **Compuesto 8** estuvo por debajo de 65 mg/mL, se agregaron heptanos (718 kg) y el lote se agitó por lo menos una hora. El lote se enfrió entonces a 0-5 °C, y el producto se aisló por filtración. Los sólidos se acondicionaron sobre el filtro y se secaron en un secador de cubeta de vacío a 45-55 °C durante por lo menos cuatro horas. Se aisló **Compuesto 8 DCM** (48,3 kg, 92%, HPLC 99,0%) como un sólido marrón claro. La conversión de **Compuesto 6** en **Compuesto 8 DCM** descrita en ejemplos 2 y 3 se muestran en el Esquema III.



Esquema III

Ejemplo 4.

El presente ejemplo describe la resolución quiral de ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona DCM por MCC y aislamiento de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona.

Se prepara una solución de carga para cromatografía multicolumna (MCC) disolviendo **Compuesto 8 DCM** en metanol. El co-solvente DCM/metanol resultante se destila hasta que el nivel residual de DCM en la solución de carga alcanza una concentración aceptable para contacto con la Fase Estacionaria Quiral (CSP - *Chiral Stationary Phase*), es decir, < 0,1% en peso. El lote se diluye en una mezcla de metanol/acetonitrilo (9:1) a una concentración de 50 mg/mL y se introduce en el sistema cromatográfico. Puede utilizarse Chiralpak AZ (CSP). Los residuos del refinado se monitorearon mediante análisis HPLC quiral y los parámetros gráficos se afinan para obtener > 99% de pureza de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona quiral (**Compuesto 10** en el Esquema I). Los residuos del refinado se agrupan y se concentran por lotes a medida que avanza la separación. Los residuos del refinado recogidos se toman en un reactor más grande y se reduce el volumen. **Compuesto 10** se aísla entonces por cristalización.

Ejemplo 5.

El presente ejemplo describe la generación por lotes de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona del enantiómero indeseado, (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona.

En algunos casos, por ejemplo, cuando la resolución se alcanza usando MCC, es deseable aislar y racemizar el enantiómero indeseado, (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona (**Compuesto 9** en el Esquema I), en una manera por lotes.

En un ejemplo del proceso para generar el **Compuesto 8** crudo del **Compuesto 9** aislado, el enantiómero indeseado (6.46 kg) se cargó en un reactor de 100-L. Se cargó etanol (60 L) seguido por la adición de NaOH sólido (1,05 kg, 1,5 equiv.). La lechada resultante se calentó a 65 °C durante 13 horas y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se muestreó y se

80

analizó por HPLC quiral que mostró una relación 54/46 de enantiómeros. Se determinó que la pureza química era 94,6% (AUC) por HPLC. La lechada se esterilizó entonces por filtración a través de celita, y la almohadilla se enjuagó con etanol (13 L). El material que se eliminó era una película marrón de sólidos sin trozos grandes. La solución se volvió a cargar entonces en el reactor de 100-L y se agregó 2 M HCl (13,1 L, 1,5 equiv.) durante 35 minutos. Durante la adición, se formó una lechada delgada. La mezcla se agitó entonces a temperatura ambiente (después de 5 horas se obtuvo una lechada gruesa de color anaranjado claro). A continuación se agregó agua (25 L) durante 45 minutos, y la mezcla se agitó durante 2 horas. Se retiró una alícuota y se filtró. Seguidamente el lote se calentó a 60 °C y se agitó durante 8 horas y, a continuación, se dejó enfriar lentamente para mejorar las propiedades de filtración de los sólidos. Se aisló **Compuesto 8** crudo [5,12 kg, 75,7% (representa 4,5 % en peso de etanol)] con una pureza química de 99,39% (AUC) por HPLC. En este caso la pureza fue suficiente para procesar posteriormente este material por MCC. La pureza puede mejorarse, si es necesario, mediante la formación del DCM.

La resolución quiral de **Compuesto 8 DCM** en **Compuesto 10** descrita en Ejemplo 4 y el reciclaje del **Compuesto 9** al **Compuesto 8** descrito en Ejemplo 5 se muestran en el esquema IV.

Ejemplo 6.

El presente ejemplo describe la resolución quiral por formación y aislamiento de la sal diastereomérica de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidini-2,5-diona.

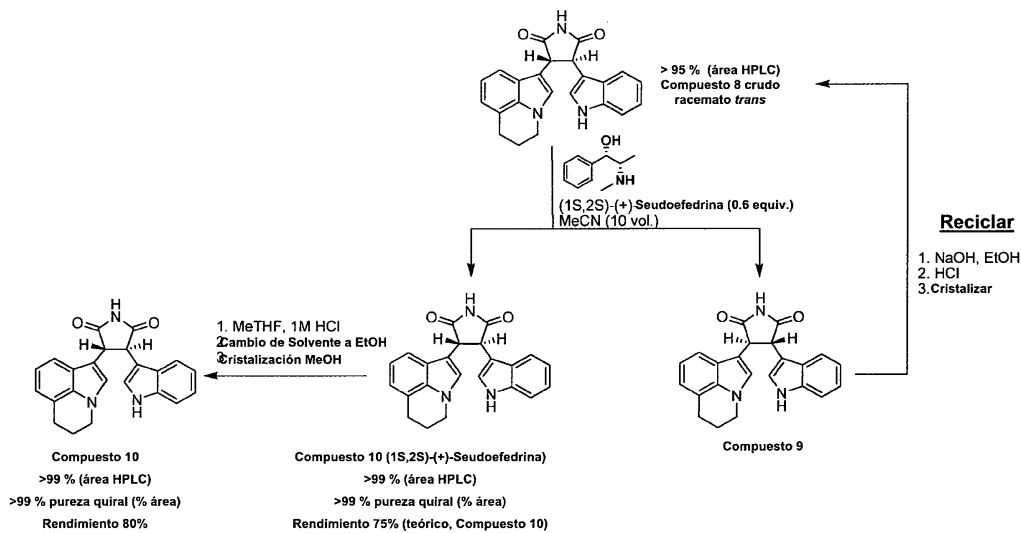
Como una alternativa a la resolución quiral por MCC, una resolución de los enantiómeros, **Compuesto 10** y **Compuesto 9**, puede conseguirse también por la formación preferencial de una sal diastereomérica de **Compuesto 10**.

En un ejemplo, **Compuesto 8** crudo puede convertirse en (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-dion-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina (**Compuesto 10**-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina en el Esquema I) usando el siguiente procedimiento representativo. (1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina (601 g, 0,6 equiv.) se disuelve en acetonitrilo (CH₃CN) (11,2 L, 5 vol.) a alrededor de 50 °C y se agita durante aproximadamente 30 minutos después de la disolución. **Compuesto 8** crudo [2,24 kg, 96,4% (AUC) por HPLC] se disuelve en CH₃CN (11,2 L, 5 vol.) a alrededor de 50 °C y luego se esteriliza por filtración a través de una almohadilla de celita. La solución de **Compuesto 8** se agrega mediante un tanque de goteo a la solución de (1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina durante 20-30 minutos a alrededor de 50 °C. Una vez la solución resultante empieza a cristalizar, poco después de la conclusión de la adición de **Compuesto 8**, la mezcla se agita hasta que lentamente se enfría a temperatura ambiente, seguidamente se continúa la agitación de un día para otro (alrededor de un total de 11 h de enfriamiento y agitación). Los sólidos granulares color beige se filtran a través de un filtro de vacío (*Nutsche*) de acero inoxidable de 18" y se remojan usando CH₃CN (7 L, 3,2 vol.). La lechada se filtra, y los sólidos se remojan de nuevo con CH₃CN (5 L, 2,3 vol.). Luego de secar sobre el filtro *Nutsche* durante 1 hora, se analiza una muestra por HPLC. Si los sólidos contienen una cantidad mayor que la deseada de la sal diastereomérica no deseada, los sólidos pueden remojarse usando CH₃CN y secarse antes de repetir el análisis. Los sólidos se secan entonces bajo N₂ caliente (51 °C) de un día para otro. Típicamente, el análisis de **Compuesto 10**-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina muestra una pureza química total de > 99% (AUC) por HPLC y una pureza quiral de > 99% **Compuesto 10**. Usando análisis ¹H NMR, se calcula que una muestra química contiene < 0,5 % en peso de CH₃CN.

El **Compuesto 10**-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina puede convertirse entonces en **Compuesto 10** por tratamiento con ácido y cristalización de metanol o etanol. Un procedimiento representativo es el siguiente: **Compuesto 10**-(1*S*,2*S*)-(+)-

seudoefedrina (50 g) se remoja en metiltetrahidrofurano (MeTHF) (500 mL) y agua (250 mL). 1 M HCl (110 mL) se agrega a la mezcla para obtener un pH final de 1,6. La solución resultante con una ligera cantidad de sólidos se agita durante alrededor de una hora para disolver los sólidos. Luego se separa la capa orgánica y acuosa. La capa orgánica se lava con una solución de agua/salmuera (1:1, 250 mL), se separa, y se agrega 2-B etanol (1.000 mL). En seguida, la solución se concentra a 200 mL y se analiza en cuanto a contenido de MeTHF (4,8 % en peso). La solución se esteriliza por filtración, y se agregan semillas de **Compuesto 10** (0,2 g) (T = 25 °C). La mezcla se agita durante alrededor de tres días, tomándose muestras periódicamente y analizándose con respecto a la presencia de **Compuesto 10** que queda en el agua madre. La lechada resultante se filtra, y los sólidos se lavan con 2-B etanol (70 mL). Los sólidos se secan durante alrededor de tres horas en un horno de vacío a alrededor de 60 °C para producir **Compuesto 10** [28,84 g, 82,7%, 99,60% (AUC) por HPLC, 0,54 % en peso de etanol, 0,08 % en peso de MeTHF] como un sólido color beige.

La resolución de la sal diastereomérica de **Compuesto 8** en **Compuesto 10** descrita en Ejemplo 6 y el reciclado de **Compuesto 9** a **Compuesto 8** descrito en Ejemplo 5 se ilustran en el Esquema V.



Esquema V

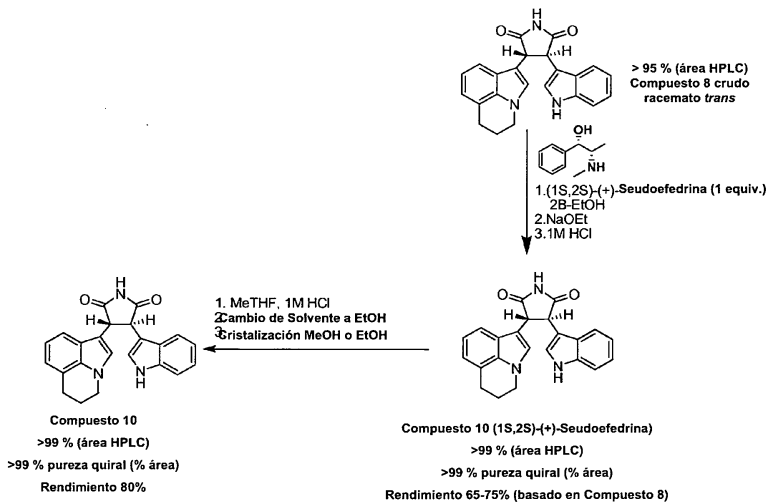
Ejemplo 7.

El presente ejemplo describe la separación quiral por resolución cinética dinámica (DKR - *dynamic kinetic resolution*).

Como una alternativa a la resolución quiral por MCC o a una resolución cinética tradicional por formación de sal diastereomérica, puede lograrse también una resolución cinética dinámica (DKR) de los enantiómeros **Compuesto 10** y **Compuesto 9** por la formación preferencial de una sal diastereomérica de **Compuesto 10** con racemización simultánea *in situ* de **Compuesto 9**.

En este proceso, **Compuesto 8** crudo puede convertirse en **Compuesto 10-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina** usando el siguiente procedimiento representativo. **Compuesto 8** crudo (1,25 kg, 96% AUC, 9,1 % en peso de contenido de solvente) y (1S,2S)-(+)-seudoefedrina (559 g, 1,0 equiv.) se remojaron en 2B-etanol (11,25 L, 9 vol.) y se calentaron a 50 °C durante 3 horas. La lechada se trató con 21 % en peso de NaOEt en metanol o etanol (110 g, 0,1 equiv.) y se calentó a 50 °C. Luego de 40 horas, la mezcla se extinguió agregando 1 M HCl (338 mL, 0,1 equiv.) en agua (786 mL, ~10% agua en relación a etanol) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a 50 °C durante 1 hora, y entonces se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La lechada se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas, y luego se filtró. Los sólidos se lavaron con 10% agua/2B-etanol (3,75 L, 3 vol.) y se secaron en un horno de vacío (50 °C, 2 cubetas) durante 18 horas. Los sólidos se analizaron y evidenciaron **Compuesto 10-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina** [1,22 Kg, 74%, 99,3% (AUC) por HPLC, 99,2% (AUC) por HPLC quiral]. Este proceso se llevó a cabo en 20 kg de **Compuesto 8** para proporcionar **Compuesto 10-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina** [18,9 kg, 70%, %, 98,8% (AUC) por HPLC, 99,1% (AUC) por HPLC quiral].

La resolución cinética dinámica de **Compuesto 8** a **Compuesto 10** mediante **Compuesto 10-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina** se muestra en el Esquema VI.



Esquema VI

Ejemplo 8.

El presente ejemplo describe la separación quiral por resolución cinética dinámica (DKR).

Como una alternativa a la resolución quiral por MCC o a una resolución cinética tradicional por formación de sal diastereomérica, puede conseguirse también una resolución cinética dinámica (DKR) de los enantiómeros **Compuesto 10** y **Compuesto 9** por la formación preferencial de una sal diastereomérica de **Compuesto 10** con racemización simultánea *in situ* de **Compuesto 9**.

En este proceso, **Compuesto 8** crudo (111,4 kg), resina secuestrante de Pd (PL-TMT-MP, 3,5 kg) y metanol (1.507 L) se agregaron a un recipiente y se calentaron a 45 °C durante por lo menos 16 horas. Una vez concluida la reacción, la mezcla se filtró para extraer la resina secuestrante de Pd. El recipiente se enjuagó con metanol (104 L). El filtrado combinado se destiló a ~600 L. (1S,2S)-(+)-Seudoefedrina (51,4 kg) y metanol (416 L) se agregaron al filtrado. La solución resultante se calentó a 45 °C durante 3-4 horas. Los sólidos se precipitaron y se analizaron por HPLC para garantizar que la reacción era procedimentalmente selectiva. A continuación se agregó una solución de metóxido de sodio en metanol (21% en peso, 6,1 kg), seguida por metanol (11 L), y la mezcla resultante se calentó a 45 °C durante 18 horas más. La mezcla de reacción se analizó por HPLC para conclusión de la cristalización. Una vez concluida la cristalización, la mezcla de reacción se trató con una solución HCl (3,5 kg) para neutralizar la base. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante un mínimo de 3 horas. Los sólidos se aislaron entonces por filtración, y los residuos de filtrado se lavaron con una solución de metanol y agua (411 L a 46 L, respectivamente). Los residuos de filtrado eran incoloros (si persistía un color significativo en los sólidos, el lavado se repetía para eliminar el color). Los sólidos se secaron en un secador de filtro a 55 °C bajo vacío durante un mínimo de 8 horas y se liberaron para uso en el siguiente paso como **Compuesto 10-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina** (101 kg).

Ejemplo 9.

El presente ejemplo describe un método de lechada para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

Se mezclaron **Compuesto 10-(1S,2S)-(+)-seudoefedrina** (100,7 kg) y una

solución de HCl acuoso (1M, 250 kg) y metanol (240 kg), y la lechada resultante se calentó a 50 °C y se agitó durante por lo menos 2 horas. Una vez concluida la reacción, la lechada se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante un mínimo de 1 hora. Los sólidos se aislaron por filtración, se lavaron con una solución al 50% de metanol acuoso (200 L), y se secaron bajo vacío a 65 °C durante por lo menos 6 horas. El **Compuesto 10** crudo se disolvió en THF (96 kg) calentando la mezcla a 50 °C. La solución resultante se esterilizó por filtración, seguida por la adición de metanol (200 kg). La solución se concentró entonces azeotrópica y atmosféricamente por destilación para reducir el contenido de THF. Una vez se redujo el volumen de la solución a 250 L, se agregó más metanol (200 L), y se repitió el proceso de concentración. Este proceso se repitió hasta que el contenido de THF se redujo a menos de 5 % (vol./vol.). Durante la adición de metanol, se introdujeron asimismo uno o más cristales de **Compuesto 10** (300 g), con el fin de facilitar la cristalización. Los cristales se aislaron por filtración, se lavaron con más metanol acuoso al 50 %, y se secaron bajo vacío a 65 °C durante por lo menos 12 horas. Se aisló **Compuesto 10** crudo (60,6 kg) como un sólido rojo-marrón.

Ejemplo 10.

El presente ejemplo describe un método de lechada para preparar el polimorfo de Forma 1 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona.

Compuesto 10 crudo se preparó como se describe en Ejemplo 9. El **Compuesto 10** crudo se disolvió en THF (96 kg) calentando la mezcla a 50 °C. La solución resultante se esterilizó por filtración, seguida por la adición de metanol (200 kg) y la Forma 1 del **Compuesto 10** como semillas, para impartir control polimórfico del proceso de cristalización. Se tomaron semillas, para impartir control polimórfico, de lotes representativos en los cuales los datos de caracterización habían confirmado que el material cristalino era de la forma polimórfica deseada. Seguidamente, la solución se concentró azeotrópica y atmosféricamente por destilación para reducir el contenido de THF. Una vez se redujo el volumen de la solución a 250 L, se agregó más metanol (200 L), y se repitió el proceso de concentración. Este proceso se repitió hasta que el contenido de THF se redujo a menos de 5 % (vol./vol.). Se disminuyó entonces la temperatura de la solución a 50 °C y se agitó durante por lo menos 4 horas. Se extrajeron alícuotas para confirmar la formación del polimorfo deseado. Si se requiere, el polimorfo puede redisolverse en THF (30% del volumen del lote), esterilizarse por filtración, concentrarse y ensemillarse ("*can be seeded*") para obtener el polimorfo

deseado. Una vez obtenido el polimorfo deseado, se agregó una solución de metanol acuoso al 50 % a 50 °C, y la solución se agitó durante 2-3 horas más. La solución se enfrió entonces a temperatura ambiente y se mantuvo durante por lo menos 2 horas para permitir la cristalización. Terminada ésta, los cristales se aislaron por filtración, se lavaron con más metanol acuoso al 50 %, y se secaron bajo vacío a 65 °C durante por lo menos 12 horas. Se aisló la Forma 1 polimórfica de **Compuesto 10** (60,6 kg) como un sólido rojo-marrón.

El polimorfo de forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona puede prepararse asimismo con el método indicado anteriormente, si el cristal semilla de forma 1 se reemplaza por el cristal semilla de forma 2.

Ejemplo 11.

Ejemplo 11 describe un método para generar difractogramas XRPD de polimorfos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona

Se recolectaron patrones de Difracción de Rayos X de Polvo en un difractómetro Siemens D5000 usando radiación Cu Ka (40kV, 40mA), goniómetro θ - θ , divergencia de V20 y ranuras receptoras, un monocromador secundario de grafito y un contador de centelleo. El funcionamiento del instrumento se verifica utilizando un estándar de corindón certificado (NIST 1976). El software usado para la recolección de los datos fue Diffrac Plus XRD Commander v2.3.1 y los datos se analizaron y se presentaron usando Diffrac Plus EVA v 11.0.0.2 o v 13.0.0.2.

Se prepararon muestras de polvo como especímenes de porta-objetos plano. Aproximadamente 35 mg de la muestra se empacaron cuidadosamente en una cavidad practicada en una oblea de silico de fondo cero (510), pulida. La muestra se giró sobre su propio plano durante el análisis. Los detalles de la recolección de datos son:

Rango angular: 2 a 42 °2 θ

Tamaño del paso: 0.05 °2 θ

Tiempo de recolección: 4 s/paso.

Ejemplo 12.

Ejemplo 12 describe un método de generar difractogramas XRPD de polimorfos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-

3-il) pirrolidin-2,5-diona

Patrones de Difracción de Rayos X de Polvo de alta resolución se recolectaron en un difractómetro Bruker D8 usando radiación Cu Ka (40 kV, 40 mA), goniómetro θ -2 θ , y una divergencia de V4 y ranura receptoras, un monocromador Ge y un detector Lynxeye. El funcionamiento del instrumento se verificó usando un estándar de corindón certificado (NIST 1976). El software usado para recolección de datos fue Diffrac Plus XRD Commander v2.5.0 y los datos se analizaron y se presentaron usando Diffrac Plus EVA v 11.0.0.2 o v 13.0.0.2.

Las muestras se corrieron bajo condiciones ambiente como especímenes de porta-objetos plano usando el polvo tal como se recibió. Aproximadamente 100 mg de la muestra se empacaron cuidadosamente en una cavidad circular practicada en una oblea de silicio de fondo cero (510), pulida. La muestra se giró sobre su propio plano durante el análisis. Los detalles de la recolección de datos para el procedimiento genérico son:

- Rango angular: 2 a 42 °2 θ
- Tamaño del paso: 0.05 °2 θ
- Tiempo de recolección: 5 s.paso⁻¹

Ejemplo 13.

Ejemplo 13 describe patrones XRPD de polimorfos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona

Dos polimorfos no solvatados de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona: forma 1 y forma 2 (ver Figuras 12 y 13).

Forma 1 muestra un patrón XRPD que comprende valores 2 θ en grados de 8.2, 10.8 y 14.1 (ver Figura 12 y Tabla 1)

Forma 2 muestra un patrón XRPD que comprende valores 2 θ en grados de 6.5, 9.9 y 12.0 (ver Figura 13 y Tabla 1)

Tabla 1

Forma 1	8.2	10.8	14.1	Total	Forma 2	6.5	9.9	12.0	Total
	área	área	área	área		área	área	área	área

1	3.925	14.08	6.646	24.651	1	6.433	5.284	10.40	22.117
2	3.866	13.98	6.608	24.454	2	6.437	5.365	10.51	22.312
3	3.847	14.03	6.625	24.502	3	6.504	5.341	10.49	22.335
4	3.880	13.99	6.556	24.426	4	6.467	5.321	10.44	22.228
5	3.889	13.88	6.619	24.388	5	6.484	5.331	10.50	22.315
6	3.854	13.92	6.586	24.360	6	6.502	5.281	10.38	22.163
media	3.88	14.0	6.61	24.464	media	6.47	5.32	10.45	22.245
RSD (%)	0.73	0.52	0.48	0.43	RSD (%)	0.00	0.00	0.01	0.02

Ejemplo 14.

Forma 1 es más estable termodinámicamente que forma 2, tal como se determinó en experimentos de interconversión. Forma 1 es orto-rómbica y contiene cuatro moléculas de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona por celda. Forma 1 tiene un punto de fusión de ~218 °C registrado en DSC (ver Figura 16).

Forma 2 está compuesta de cristales en forma de varilla, bi-refringentes. No se observó un cambio apreciable en la forma cristalina o pureza luego del almacenamiento de lotes múltiples de forma 2 a 40 °C/75% humedad relativa (RH) durante hasta seis meses y 25 °C/60% RH (humedad relativa) durante hasta 12 meses. El grupo espacial de forma 2 fue *P*2₁ o *P*2: hay dos moléculas de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona en la celda unitaria (una molécula en la unidad asimétrica), y no hay exceso de volumen en la celda unitaria que es ocupada por una molécula de solvente. Forma 2 tiene un punto de fusión de ~216 °C registrado en DSC (ver Figura 16).

Luego del escalamiento del proceso de **Compuesto 10** a > 5 kg de producción como un solo lote, se produjo espontáneamente forma 1. Se determinó que el análisis infra-rojo (IR) y la difracción de rayos X de polvo (XRPD) eran herramientas analíticas efectivas para la identificación y diferenciación de las dos formas (ver Figuras 14 y 15). El proceso se controló fácilmente mediante ensemillamiento demostrado a una escala de 7 kg.

Los dos polimorfos pueden interconvertirse cuando se usan condiciones adecuadas para controlar el proceso de cristalización. Forma 2 puede obtenerse disolviendo forma 1 en metanol, ensemillando con forma 2 y evaporando la mezcla a sequedad por evaporación rotatoria. Se determinó que la conversión exitosa era forma 2 por análisis IR y se corroboró por análisis XRPD.

Ejemplo 15.

El espectro IR de Forma 1 exhibió una vibración intensa centrada en $\sim 3.300 \text{ cm}^{-1}$ que no se observó en forma 2 (Figura 15, Panel A), mientras que el espectro IR de la forma 2 mostró un pico relativamente intenso centrado en $\sim 800 \text{ cm}^{-1}$, el cual no se observó en la forma 1 (Figura 15, Panel B).

Forma 1 y forma 2 tienen diferentes solubilidades de equilibrio: forma 2 = 0.61 mg/mL y forma 1 = 0.51 mg/mL . Figura 17, Panel A muestra la solubilidad de las formas 1 y 2 en metanol desde $0-70^\circ\text{C}$. Figura 17, Panel B muestra la solubilidad intrínseca de las formas 1 y 2 en 50 mM pH 6,8 solución amortiguadora de fosfato /1% SLS.

Ejemplo 16.

Células MDA-MB-231, que crecen exponencialmente, o células MIA PaCa-2 (también conocidas como PACA-2) se sembraron a 1.000 células por pocillo en placas de 6 pocillos y se dejaron fijar durante 24 horas. Células MDA-MB-231 y MIA PaCa-2 se cultivaron en DMEM suplementado con suero bovino fetal (FBS – *fetal bovine serum*) al 10% (v/v) y 5 ml de penicilina/estreptomicina a 37°C en 5% CO_2 . MDA-MB-231 y MIA PaCa-2 se establecieron en líneas de células de carcinoma pancreático y cáncer de mama humano negativo en receptor de estrógeno, respectivamente. Se disolvieron ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona o ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona, cada una con una concentración de 10 mM en DMSO, y se agregaron separadamente a las células con una concentración de 0,1, 0,25, 0,5, 1 o $2 \mu\text{M}$. Las placas de control recibieron DMSO solo, en el mismo porcentaje de volumen de cultivo total que el administrado en conjunción con la máxima concentración de medicamento. Los cultivos celulares se observaron diariamente durante 10-15 días, luego se fijaron y se tiñeron con colorante Wright-Giemsa modificado (Sigma). El tratamiento con ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona o ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona resulta en muerte celular de las células MDA-MB-231 o las células Paca-2. Ver, v.g., Figura 2. Se descubrió que la IC_{50} para ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona era $0,5 \mu\text{M}$. Se descubrió que el valor IC_{50} para ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona era $0,5 \mu\text{M}$.

Ejemplo 17.

Células MDA-MB-231 (ATCC #HTB-26), cultivadas en DMEM más suero

93

bovino fetal, inactivado por calor, al 15% más 10 mM HEPES pH 7,5 se esparcieron sobre placas de 60 mm² (2 x 10⁵ células por placa). Luego de dos días los compuestos candidatos en DMSO con varias concentraciones se diluyeron en medio y se agregaron a placas individuales, de manera que la concentración final de DMSO en el medio de cultivo celular fuera del 0,1%. Después de dos días de incubación, el cultivo se trató con tripsina, las células se lavaron con medio, se contaron usando un hemocitómetro, y 500 células, incluyendo cuerpos celulares, se esparcieron en placas de 100 mm² en medio. Dos semanas después se extrajo el medio y las colonias de células se fijaron con metanol durante 10 minutos, se tiñeron con violeta cristal al 1% durante 10 minutos, se lavaron con agua y se secaron con aire. Las colonias de células se contaron visualmente cuando hubo más de 50 células presentes por colonia. La eficiencia de la siembra de placas se definió como el número promedio de colonias formadas dividido por 500. La fracción sobreviviente se definió como la eficiencia de la siembra de placas de un compuesto candidato, dividida por la eficiencia de la siembra de placas de DMSO multiplicada por 100. Para las titulaciones del compuesto candidato, se determinó el valor IC₅₀ ajustando la ecuación $y=Ae^{Bx}$ a los puntos de los datos y extrapolando la concentración donde la fracción sobreviviente era igual a 50. El tratamiento con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona o (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona resulta en muerte celular de las células MDA-MB-231. Ver, v.g., Figura 3. Se descubrió que la IC₅₀ para (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona era 0,62 µM. Se descubrió que la IC₅₀ para (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona era 4,1 µM.

Ejemplo 18.

Proteína cinasa C recombinante (Calbiochem) (100 ng) se incubó con (±)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona o (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona a 0,05, 0,5, o 10 µM durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, a una mezcla de etiquetado radioactivo en solución amortiguadora de cinasa (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM MgCl₂) que contenía 20 µM ATP, 0,2 µCi/µl γ³²P-ATP, 0,2 µg/µl Histona H1 (Upstate Biotechnology/Millipore, Bedford, MA) se agregó a cada muestra. La reacción de cinasa se llevó a cabo durante 5 minutos a temperatura ambiente. Los productos de reacción se analizaron por 12% SDS-PAGE y auto-radiografía.

El tratamiento de la proteína cinasa C recombinante C durante 15 minutos a temperatura ambiente con ($\pm$)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona o ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona con las concentraciones analizadas no redujo la actividad cinasa en comparación con el tratamiento con el tratamiento con portador solo. Ver, v.g., Figura 4.

Ejemplo 19.

Células MDA-MB-231 se privaron de suero de un día para otro (16 horas) en la ausencia o en la presencia de las concentraciones indicadas de los enantiómeros separados (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona y (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. Las células se trataron con 100 ng/ml de Factor de Crecimiento de Hepatocitos humano recombinante/Factor de Dispersión (HGF/SF) (R&D Systems #294-HG) durante 10 minutos. Se prepararon extractos de células enteras en solución amortiguadora de lisis (20 mM Tris-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM Na₂EDTA, 1 mM EGTA, 1% Triton X-100, 2,5 mM pirofosfato de sodio, 1 mM beta-glicerofosfato, 1 mM Na₃VO₄, 1 µg/ml leupeptina, 1 mM fluoruro de fenilmetilsulfonilo) y se sonicaron. Se midió la concentración de proteína por análisis Bradford usando el reactivo BioRad (BioRad, Hercules, CA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se resolvieron muestras (50 µg de proteína) por 8% SDS-PAGE bajo condiciones reductoras y se transfirieron a una membrana PVDF (BioRad). La membrana se incubó 1 hora en TBS-T (50 mM Tris-HCl (pH = 7,6), 200 mM NaCl, 0,05% Tween 20) con leche al 5%. Se detectaron proteínas por incubación de un día para otro a 4°C en TBS-T con leche al 5% y o bien un anticuerpo policlonal contra c-Met (#3121) fosforilado, o bien un anticuerpo monoclonal contra β -actina (A-5441) (Sigma), el cual se usó como control para la carga de proteína total. Luego de un lavado extensivo en TBS-T, una IgG anti-conejo conjugada con peroxidasa de rábano (1:5000) o IgG anti-ratón (1:2000) (Amersham Biosciences) se agregó durante 1 hora, y se visualizaron bandas de proteína específicas usando un sistema de detección mejorado de quimioluminiscencia (Amersham Biosciences), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Ver, v.g., Figura 5.

El tratamiento con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona inhibe tanto la autofosforilación inducida por HGF como la basal de c-Met con una concentración de por lo menos 30 nM. En contraste, (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona tuvo únicamente un efecto inhibitorio mínimo sobre la

fosforilación de c-Met con concentraciones mucho más grandes (20 μ M). Ver, v.g., Figura 5.

Ejemplo 20.

Células de cáncer de pulmón humano A549 en una placa de 96 pocillos (Costar 3603, 5.000/pocillo) se trataron o bien con A) DMSO como control; o bien con B) 1,2 μ M (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona durante 38 horas antes de la adición de 1:200 anexina V fluorescente (verde) y 1:500 yoduro de propidio (magenta, concentración final de 1 μ g/mL). El procedimiento de etiquetado se dejó avanzar a 37°C durante 20 minutos, seguido por adquisición de imágenes y análisis usando un Citómetro de Imágenes IC100 (Beckman Coulter, Inc) con una amplificación de 10X.

Para determinar si (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona opera principalmente mediante un mecanismo citostático o apoptótico, células cancerígenas expuestas a (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se tiñeron con anexina V marcada fluorescentemente (fluorescencia verde) y yoduro de propidio (fluorescencia magenta brillante). Anexina V es un reactivo perfectamente validado que se une específicamente con alta afinidad a fosfatidilserina de la membrana externa, un marcador temprano de la iniciación de apoptosis, mientras que el yoduro de propidio es un marcador para células muertas. La incubación de células cancerígenas de pulmón humano (A549) con 1,2 μ M (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona durante 38 horas indujo a las células a experimentar apoptosis, como se evidenció por una fuerte coloración de anexina V. Un pequeño porcentaje de células (~10-20%) se tiñeron conjuntamente con anexina V y yoduro de propidio, indicando que una subpoblación de células tratadas con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona ya estaban muertas en un término de 38 horas. Estos datos son consistentes con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona induciendo muerte celular en gran medida mediante la activación de mecanismos apoptóticos. (Ver Figura 6)

Ejemplo 21.

Células MDA-MB-231 se pre-trataron con concentraciones indicadas de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona durante 24 horas. 300 μ l de cada suspensión de células (con una

concentración de $0,5 \times 10^6$ células/mL en medio libre de suero) se pusieron en insertos individuales y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Los pocillos del fondo que alojaban los insertos contenían 500 µl de medio con FBS al 10%. A 24 horas se aspiró el medio de cada inserto, y las células que no invadieron se extrajeron cuidadosamente del interior de los insertos con un hisopo con punta de algodón. Cada inserto se transfirió entonces a un pocillo limpio, que contenía una solución de colorante de células, y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. El fondo del inserto se descoloró incubando en solución de extracción y se midió la OD a 560 nM. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona inhibió la migración a través de los intersticios en cultivos confluentes de células cancerígenas MDA-MB-231. Los datos representan la media de dos experimentos independientes. (Ver Figura 7).

La morbilidad resultante de la mayoría de los cánceres es el resultado de la invasión local y la metástasis de los tumores desde los tumores primarios a otros tejidos. Este proceso depende en su mayor parte de la motilidad y el desarrollo de células tumorales. La activación de c-Met por HGF induce una variedad de respuestas celulares incluyendo motilidad, invasión, curación y regeneración de tejido. Se ha establecido que la activación aberrante de c-Met juega un papel crítico en el desarrollo y evolución de tumores primarios y metástasis secundarias. HGF tiene la capacidad de disociar capas epiteliales y de estimular la motilidad y la invasión celular a través de sustratos de matriz extracelular, y la producción de HGF se correlaciona con metástasis de tumores *in vivo*.

Como se muestra anteriormente, (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona inhibió el fenotipo invasivo de células cancerígenas de cáncer de mama MDA-MB-231 con un valor IC_{50} calculado de aproximadamente 500 nM. Resultados similares se observaron con células cancerígenas de pulmón y cerebro. Es decir, los resultados muestran que la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona inhibe la invasión celular del cáncer metastásico.

Ejemplo 22.

La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4H-pirrolo [3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona muestra eficacia en un xenoinjerto de cáncer de mama humano. Células cancerígenas de cáncer de mama humano MDA-MB-231 se inocularon sucutáneamente en ratones lampiños atímicos hembra (8.0×10^6 células/ratón) y se dejó que formaran tumores palpables. Una vez los tumores

alcanzaron aproximadamente 60 mm³, los animales se trataron oralmente con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona a 200 mg/kg o control vehículo diariamente (5 días consecutivos, seguidos por un descanso de la dosificación de 2 días). La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona se formuló en PEG 400:20% vitamina E TPGS (60:40). Los animales recibieron un total de 20 dosis de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona o control vehículo. Los tumores se midieron de principio a fin del tratamiento y el período de observación pre-tratamiento. Cada punto representa la media ± SEM de diez tumores. (Ver Figura 8).

El tratamiento con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona como monoterapia fue efectiva en desacelerar el desarrollo de los tumores. Se calculó que la inhibición del desarrollo de los tumores de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4- (1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona era 79% y fue estadísticamente significativa ($p = 0,009$). No hubo variación significativa en el peso corporal debido a la administración oral del vehículo o (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con 200 mg/kg.

Ejemplo 23.

En un modelo de xenoinjerto de cáncer de colon humano, células de cáncer de colon humano HT-29 se inocularon subcutáneamente en ratones lampiños atímicos hembra (5×10^6 células/ratón) y se dejó que formaran tumores palpables. Una vez los tumores alcanzaron aproximadamente 60 mm³, los animales se trataron oralmente o bien con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con 200 mg/kg o 300 mg/kg, o control vehículo diariamente (5 días consecutivos, seguidos por un descanso la en dosificación de 2 días). La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se formuló en PEG 400:20% vitamina E TPGS (60:40). Los animales recibieron un total de 20 tratamientos de o bien (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona o bien control vehículo. Los tumores se midieron de principio a fin del tratamiento y el período de observación pos-tratamiento. Cada punto representa la media ± SEM de diez tumores. (Ver Figura 9, Panel A).

En este modelo de xenoinjerto de cáncer de colon altamente agresivo, los animales dosificados o bien con 200 mg/kg o bien con 300 mg/kg como monoterapia mostraron una inhibición significativa del desarrollo del tumor, siendo

300 mg/kg más eficaces que 200 mg/kg. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona dosificada a 200 mg/kg mostró una inhibición óptima del desarrollo del tumor de 39% ($p = 0,006$), mientras que 300 mg/kg mostraron una inhibición óptima del tumor de 55% ($p = 0,00001$). No hubo variación significativa en el peso corporal debida a la administración oral ya sea de control vehículo o ya sea de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona a 200 mg/kg o 300 mg/kg.

La eficacia de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se analizó igualmente en modelos de xenoinjerto con varias otras líneas de células cancerígenas: MIA PaCa2 de cáncer pancreático humano (Figura 9, Panel B), PC3 cáncer de próstata humano (Figura 9, Panel C) y MKN45 cáncer gástrico humano (Figura 9, Panel D). Las células se trataron con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona como monoterapia en concentraciones indicadas. En todos estos modelos, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona inhibió significativamente el desarrollo del tumor.

Ejemplo 24.

La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona mostró una citotoxicidad significativa contra múltiples líneas de células cancerígenas. Varias líneas de células cancerígenas se trataron con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona en concentraciones indicadas, que variaban desde 0,03 a 30 μ M. La sensibilidad de estas células a la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se midió por un análisis MTS de citotoxicidad estándar (Figura 10). Líneas de células cancerígenas humanas, que expresan c-Met y/o fosfo-c-Met, fueron sensibles a la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. Por el contrario, líneas de células cancerígenas humanas sin c-Met o fosfo-c-Met inmunodetectable (Figura 10, SK-MEL-28, MCF-7 y NCI-H661) mostraron poca sensibilidad.

Ejemplo 25.

La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se evaluó en cuanto a su actividad de inhibir un gran panel ($n = 230$) de cinasas humanas. Los datos mostrados en Tabla 2 demostraron que la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-

diona inhibió únicamente c-Met en un grado significativo y mostró actividad modesta contra un pequeño número de otras cinasas. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona mostró una constante inhibitoria (K_i) de ~360 nM contra c-Met.

Tabla 2

Cinasa	IC ₅₀
CAMKIIδ	~10 μM
Flt4	~16 μM
PAK3	~6,6 μM
Pim-1	10 μM (33% de inhibición)

Ejemplo 26.

Se estableció un modelo de xenoinjerto de cáncer de colon humano con células de cáncer de colon humano HT-29, como se describe en Ejemplo 23. Los ratones portadores del tumor se trataron con una sola dosis de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona (300 mg/kg). Se detectó la reducción de fosfo-c-Met inmunohistoquímicamente 24 horas más tarde. Se visualizó una disminución significativa en la cantidad de fosfo-c-Met con el uso de un sistema de inmunoperoxidasa, el cual empleaba diaminobencidina, que proporciona un producto de reacción marrón insoluble (Figura 11, Panel A). La transferencia Western de la muestra del tumor para fosfo-c-Met confirmó el análisis inmunohistoquímico (Figura 11, Panel B).

Ejemplo 27.

El presente ejemplo describe la inhibición de la Tirosina Cinasa de Receptor c-Met Receptor en Sarcoma de Células Claras y Tumores Asociados con MiT (*Microphthalmia Transcription Factor* - Factor de Transcripción de Micoftalmía). Los compuestos de la invención demostraron asimismo eficacia en un paciente con sarcoma de células claras. Los estudios descritos en el presente ejemplo usaron (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, un inhibidor de molécula pequeña de la tirosina cinasa de receptor c-Met.

La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona es un inhibidor selectivo de c-Met, una tirosina cinasa de receptor. Cuando se activa anormalmente, c-Met juega múltiples roles en aspectos

de cáncer humano, incluyendo el crecimiento de células cancerígenas, supervivencia, angiogénesis, invasión y metástasis. Los datos descritos anteriormente demuestran que la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona inhibe la activación de c-Met en una amplia gama de líneas de células de tumores humanos, incluyendo sarcoma de células claras, y muestra actividad anti-tumoral contra varios xenoinjertos de tumores humanos. En estudios clínicos, el tratamiento con (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona ha sido bien tolerado y ha se ha traducido en respuestas de los tumores y enfermedad estable prolongada a través de amplios rangos de tumores y de dosis.

La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se administró a un paciente con sarcoma de células claras. En particular, (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona demostró una respuesta parcial, como se definió por RECAST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* – Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos), en un paciente con sarcoma de células claras.

La respuesta objetiva a la administración de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se observó en una cohorte de pacientes afectados por un grupo molecularmente conectado de tipos de tumor sarcoma, para los cuales no existe tratamiento efectivo. Basándose en esta respuesta, la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se administra en una dosis de 360 miligramos (mg) dos veces diariamente (b.i.d.).

La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se administra a pacientes con tumores asociados a MiT (Factor de Transcripción de Microftalmía - *Microphthalmia Transcription Factor*), los cuales pueden incluir sarcoma de células claras (CCS - *clear cell sarcoma*), sarcoma de la parte blanda alveolar (ASPS - *alveolar soft part sarcoma*) y carcinoma de células renales asociado con translocación (RCC - *renal cell carcinoma*), se encuentran conectados biológicamente a través de una anormalidad cromosómica común que es responsable de la sobre-expresión de c-Met, resultante en el desarrollo de estos tumores. Tumores con esta anormalidad son resistentes a las terapias corrientes y, en la ausencia de resección quirúrgica exitosa, son invariablemente fatales.

Durante la primera fase de un estudio, se enrolaron 23 pacientes y se trataron con 120 mg de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-

(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona b.i.d. Se demostró que catorce de estos pacientes eran evaluables por eficacia. Además del paciente con la respuesta parcial confirmada, diez de los pacientes evaluables demostraron una enfermedad estable.

La respuesta clínica objetiva demostrada para (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona utiliza los datos que mostraron que la inactivación de la expresión de MiT por ARN horquillado corto (shRNA) suprimió la expresión de c-Met e impidió el crecimiento de células del sarcoma de células claras humano *in vitro* e *in vivo*. Este hallazgo llevó al desarrollo de un estudio clínico en pacientes con tumores asociados a MiT usando (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, la cual mostró actividad anti-neoplásica, incluyendo respuestas objetivas del tumor, así como la capacidad de inhibir la proteína c-Met en biopsias del tumor, tomadas de pacientes tratados con el medicamento.

Lo que se reivindica es:

1. Un polimorfo de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8 y 14.1 °2θ usando radiación Cu Ka.
2. El polimorfo de la reivindicación 1 caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8, 14.1, 15.5, 17.8, 19.9 y 25.6 °2θ usando radiación Cu Ka.
3. El polimorfo de la reivindicación 1 caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 8.2, 10.8, 14.1, 14.9, 15.5, 17.1, 17.8, 19.4, 19.9, 21.1, 21.9, 23.0, 25.6 y 28.4 °2θ usando radiación Cu Ka.
4. Un polimorfo de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9 y 12.0 °2θ usando radiación Cu Ka.
5. El polimorfo de la reivindicación 4 caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9, 12.0, 16.7, 20.1 y 22.8 °2θ usando radiación Cu Ka.
6. El polimorfo de la reivindicación 4 caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en aproximadamente 6.5, 9.9, 12.0, 13.2, 16.4, 16.7, 17.2, 20.1, 20.3, 20.8, 22.8, 23.7, 28.6 y 30.4 °2θ usando radiación Cu Ka.
7. Una (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano.
8. Una composición que contiene (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano.
9. La composición de la reivindicación 8 que contiene más de 90% de (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona diclorometano.
10. La composición de la reivindicación 9 que contiene más de 95% de (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4Hpirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-

diona diclorometano.

11. La composición de la reivindicación 10 que contiene más de 99% de (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona diclorometano.

12. Una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina.

13. Una composición que contiene (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina.

14. La composición de la reivindicación 13 que contiene más de 90% de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina.

15. La composición de la reivindicación 14 que contiene más de 95% de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo[3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona-(1*S*,2*S*) -(+)-seudoefedrina.

16. La composición de la reivindicación 15 que contiene más de 99% de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina.

17. La composición de la reivindicación 13 que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona pseudoefedrina.

18. La composición de la reivindicación 17 que contiene menos de 0,5% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona pseudoefedrina.

19. La composición de la reivindicación 18 que contiene menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona pseudoefedrina.

20. Una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4- (1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona quiralmente purificada que contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin- 2,5-diona.

21. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona quiralmente pura de la reivindicación 20 que contiene menos de 0,7% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

22. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona quiralmente pura de la reivindicación 21 que contiene menos de 0,5% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

23. La (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona quiralmente pura de la reivindicación 22 que contiene menos de 0,1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

24. Un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que incluye:

- a. mezclar (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con (1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina en un primer solvente para formar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(*kS*,2*S*)-(+)-seudoefedrina sólida;
- b. lavar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina sólida formada en el paso (a) con una mezcla acuosa del primer solvente;
- c. hacer reaccionar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina del paso (b) con un ácido en un solvente orgánico y aislar la capa orgánica de la solución resultante;
- d. lavar la capa orgánica del paso (c);
- e. agregar un segundo solvente a la capa orgánica;
- f. concentrar la capa orgánica hasta que la cantidad del segundo solvente en la solución es menos de 5%; y
- g. cristalizar de la capa orgánica en el paso (f) y secar la solución de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona resultante bajo vacío, produciendo (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

25. El método de la reivindicación 24, en donde el citado primer solvente es un solvente no acuoso.

26. El método de la reivindicación 25, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores.

27. El método de la reivindicación 24, en donde el citado segundo solvente es un solvente no acuoso.
28. El método de la reivindicación 27, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores.
29. El método de la reivindicación 24, en donde el citado segundo solvente es el mismo que el citado primer solvente.
30. El método de la reivindicación 24, en donde el citado segundo solvente es diferente del citado primer solvente.
31. El método de la reivindicación 24, en donde el citado solvente orgánico en el paso (c) es metiltetrahidrofurano.
32. El método de la reivindicación 24, en donde la citada capa orgánica se lava con una solución salina en el paso (d).
33. El método de la reivindicación 32, en donde la citada solución salina es una solución de cloruro de sodio.
34. El método de la reivindicación 24, que incluye además enjuagar el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona después del paso (g).
35. El método de la reivindicación 34, en donde el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se enjuaga con un alcohol seleccionado de etanol y metanol.
36. El método de la reivindicación 24, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.
37. El método de la reivindicación 36, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 0,7% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.
38. Un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que incluye:
- mezclar ($\pm$)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona con ciclohexiletilamina en un

primer solvente para formar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-ciclohexiletilamina sólida;

- b. lavar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-ciclohexiletilamina sólida formada en el paso (a) con una mezcla acuosa del primer solvente;
- c. hacer reaccionar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona-ciclohexiletilamina del paso (b) con un ácido en un solvente orgánico y aislar la capa orgánica de la solución resultante;
- d. lavar la capa orgánica del paso (c);
- e. agregar un segundo solvente a la capa orgánica;
- f. concentrar la capa orgánica hasta que la cantidad del segundo solvente en la solución es menor que 5%; y
- g. cristalizar de la capa orgánica en el paso (f) y secar la solución de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona resultante bajo vacío, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

39. El método de la reivindicación 38, en donde el citado primer solvente es un solvente no acuoso.

40. El método de la reivindicación 39, en donde el citado solvente no acuoso es acetonitrilo.

41. El método de la reivindicación 38, en donde el citado segundo solvente es un solvente no acuoso.

42. El método de la reivindicación 41, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores.

43. El método de la reivindicación 38, en donde el citado segundo solvente es el mismo que el citado primer solvente.

44. El método de la reivindicación 38, en donde el citado segundo solvente es diferente del citado primer solvente.

45. El método de la reivindicación 38, en donde el citado solvente orgánico en el paso (c) es metiltetrahidrofurano.

46. El método de la reivindicación 38, en donde la citada capa orgánica se lava

con una solución salina en el paso (d).

47. El método de la reivindicación 46, en donde la citada solución salina es una solución de cloruro de sodio.

48. El método de la reivindicación 38, que incluye además enjuagar el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona después del paso (g).

49. El método de la reivindicación 48, en donde el cristal de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona se enjuaga con un alcohol seleccionado de etanol y metanol.

50. El método de la reivindicación 38, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

51. El método de la reivindicación 50, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 0,7% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

52. Un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que incluye:

- a. mezclar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona-(1*S*,2*S*)-(+)-seudoefedrina y un ácido;
- b. agregar un alcohol a la mezcla de (a) para formar una lechada;
- c. calentar y revolver la lechada formada en (b);
- d. enfriar y aislar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona;
- e. lavar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona aislada en el paso (d) con un primer solvente;
- f. disolver la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona del paso (e) en un segundo solvente para formar una solución;
- g. agregar un tercer solvente a la solución en (f) y destilar la solución hasta que la cantidad del citado segundo solvente en la solución es menor que 5%;
- h. cristalizar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona de la solución en (g);

- i. opcionalmente, agregar un cuarto solvente para madurar los cristales de (h);
- j. aislar los cristales de (i) por filtración;
- k. lavar los cristales de (j) con una mezcla del tercer solvente y el cuarto solvente; y
- l. secar los cristales de (k) bajo vacío, produciendo así la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

53. El método de la reivindicación 52, en donde el citado alcohol es metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores.

54. El método de la reivindicación 52, en donde el citado primer solvente es un solvente no acuoso.

55. El método de la reivindicación 54, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores.

56. El método de la reivindicación 52, en donde el citado segundo solvente es un solvente no acuoso.

57. El método de la reivindicación 56, en donde el citado solvente no acuoso es tetrahidrofurano.

58. El método de la reivindicación 52, en donde el citado tercer solvente es un solvente no acuoso.

59. El método de la reivindicación 58, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores.

60. El método de la reivindicación 52, en donde el citado cuarto solvente es un solvente acuoso.

61. El método de la reivindicación 60, en donde el citado solvente acuoso es agua.

62. El método de la reivindicación 52, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

63. El método de la reivindicación 62, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona

producida contiene menos de 0,7% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

64. Un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que incluye:

- a. disolver (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona en diclorometano y aislar la (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano;
- b. disolver la (±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona diclorometano en un primer solvente;
- c. destilar la solución del paso (b) hasta que el nivel de diclorometano en la solución es < 0,1% en peso;
- d. diluir la solución del paso (c) en un segundo solvente;
- e. introducir la solución del paso (d) en un sistema de cromatografía multicolumna que contenga un empacado apropiado para separación quiral;
- f. agrupar el residuos de refinado resultantes obtenidos del sistema en el paso (e); y
- g. cristalizar los residuos de refinado del paso (f) y filtrar la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il)pirrolidin-2,5-diona resultante, produciendo así (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

65. El método de la reivindicación 64, en donde el citado primer solvente es un solvente no acuoso.

66. El método de la reivindicación 65, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, o una mezcla de los anteriores.

67. El método de la reivindicación 64, en donde el citado segundo solvente es un solvente no acuoso.

68. El método de la reivindicación 67, en donde el citado solvente no acuoso es metanol, etanol, acetonitrilo, o una mezcla de los anteriores.

69. El método de la reivindicación 68, en donde el citado solvente no acuoso es una mezcla de metanol y acetonitrilo.

- 110
70. El método de la reivindicación 64, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 1% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.
71. El método de la reivindicación 70, en donde la citada (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona producida contiene menos de 0,7% de (+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.
72. Un método para preparar (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, método que incluye los pasos (a)-(f) de la reivindicación 64 y el paso (g'), en donde el paso (g') comprende evaporar los residuos de refinado en el paso (f), produciendo así la (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.
73. Una composición farmacéutica que contiene un polimorfo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 4-6 y un portador farmacéuticamente aceptable o excipiente.
74. Una composición farmacéutica que contiene una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona quiralmente purificada de una cualquiera de las reivindicaciones 20-23.
75. Un método de tratar un cáncer, método que incluye administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un polimorfo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 y 4-6 en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.
76. El método de la reivindicación 75, en donde el citado cáncer se selecciona de cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de próstata, leucemia mielógena crónica, melanoma, cáncer de ovario, carcinoma renal, hepatoma, cáncer de cerebro y mieloma múltiple.
77. Un método de tratar un cáncer, método que incluye administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona quiralmente purificada de una cualquiera de las reivindicaciones 20-23 en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.
78. El método de la reivindicación 77, en donde el citado cáncer se selecciona de cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer pancreático,

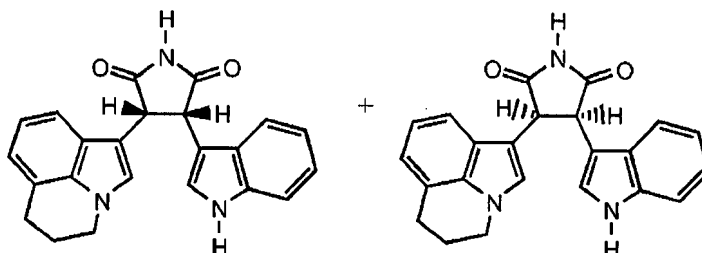
cáncer de próstata, leucemia mielógena crónica, melanoma, cáncer de ovario, carcinoma renal, hepatoma, cáncer de cerebro y mieloma múltiple.

COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLINIL-PIRROLIDIN-2,5-DIONA PURIFICADA Y MÉTODOS DE PREPARARLAS Y EMPLEARLAS

Resumen:

La presente invención se refiere a un polimorfo de forma 1 y forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. La presente invención se refiere asimismo a compuestos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona que tienen una pureza quiral de más de 99%, y a métodos de preparación de estos compuestos. La presente invención se refiere igualmente a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. La presente invención proporciona métodos de tratar un trastorno proliferativo celular, tal como cáncer, administrando a un sujeto necesitado de ello una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que contiene (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% o un polimorfo de forma 1 y forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

(±)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona



(±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidini-2,5-diona

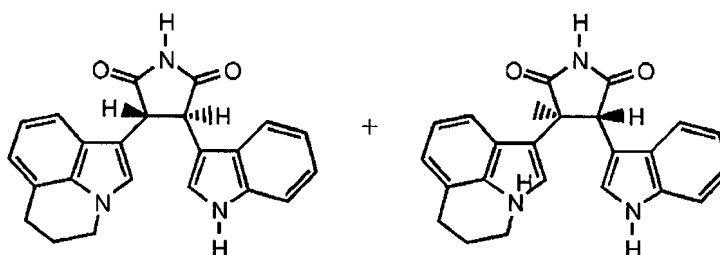
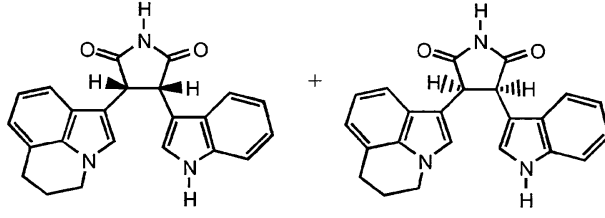


FIG. 1

(±)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4(1 H-indol-3-il) pirrolidin-2, 5-diona



(±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4(1 H-indol-3-il) pirrolidin-2, 5-diona.

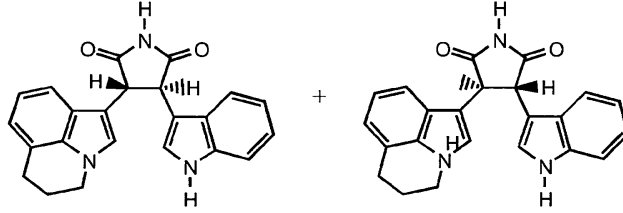
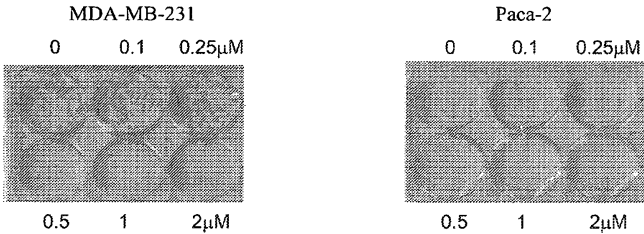


FIG. 1

(±)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4- (1H- indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona



(±)-cis-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidine-2,5-diona

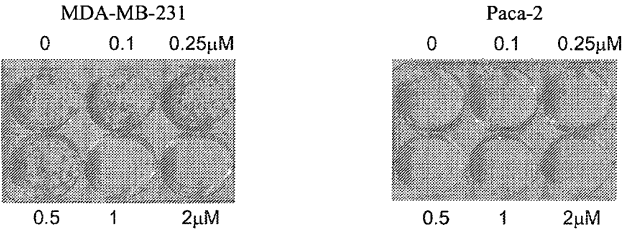
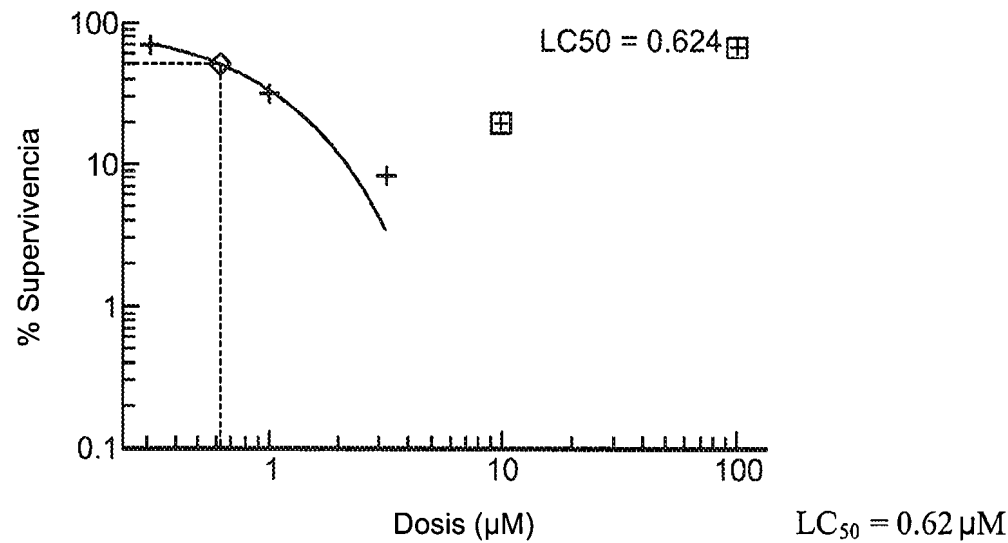


FIG. 2

(-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona



(+)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[3,2,1-*H*]quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona

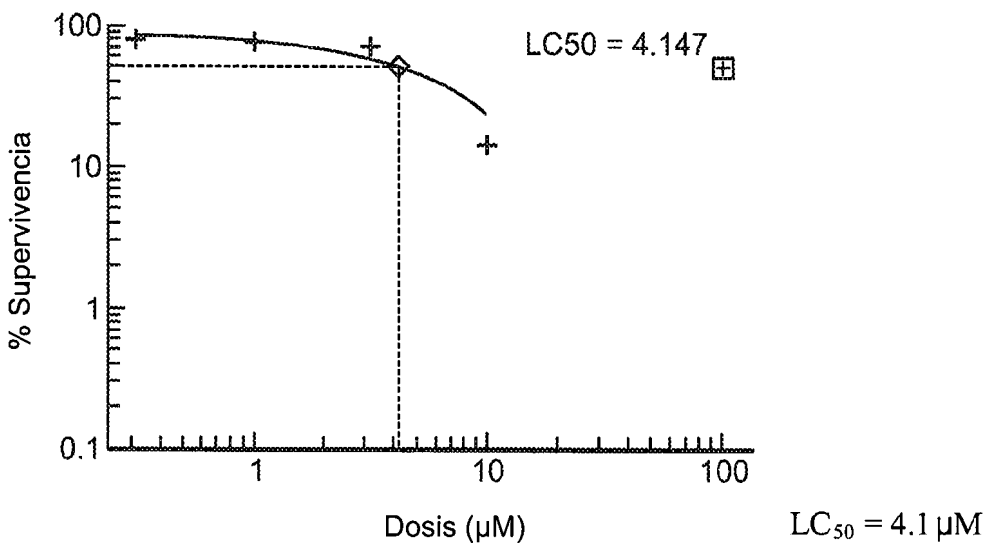


FIG. 3

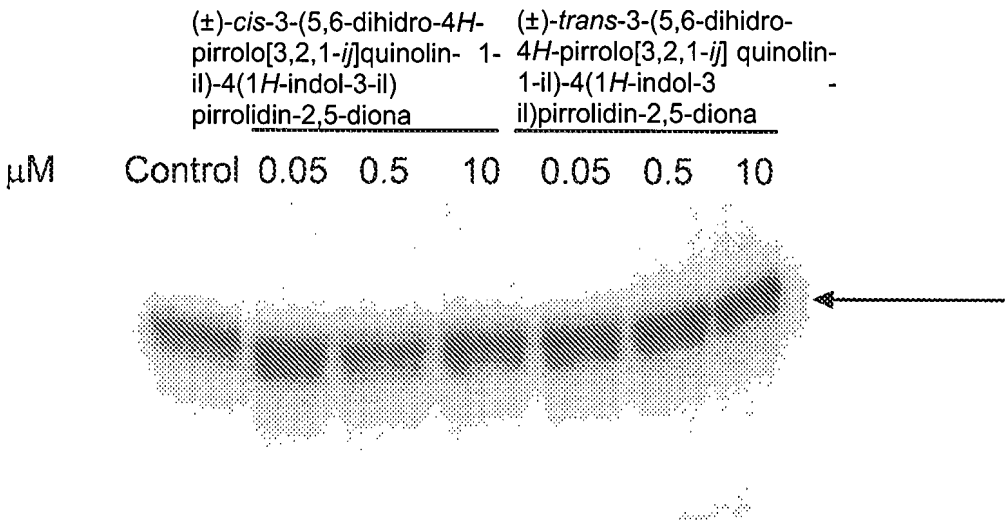


FIG. 4

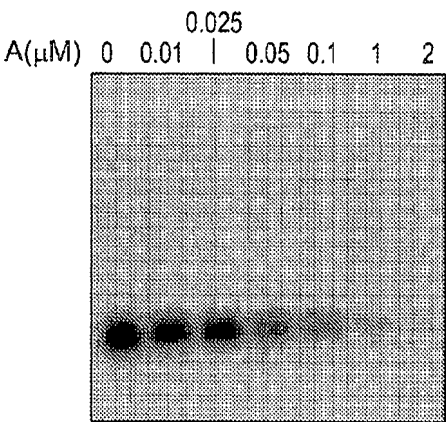
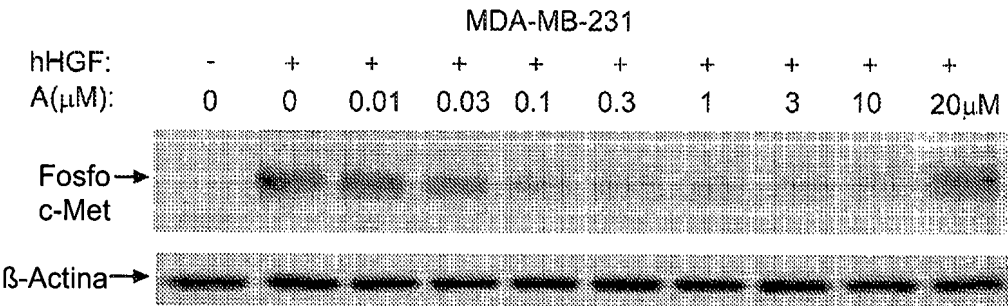


FIG. 5A



A= (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-ij] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona

B= (+)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-ij] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona

FIG. 5B

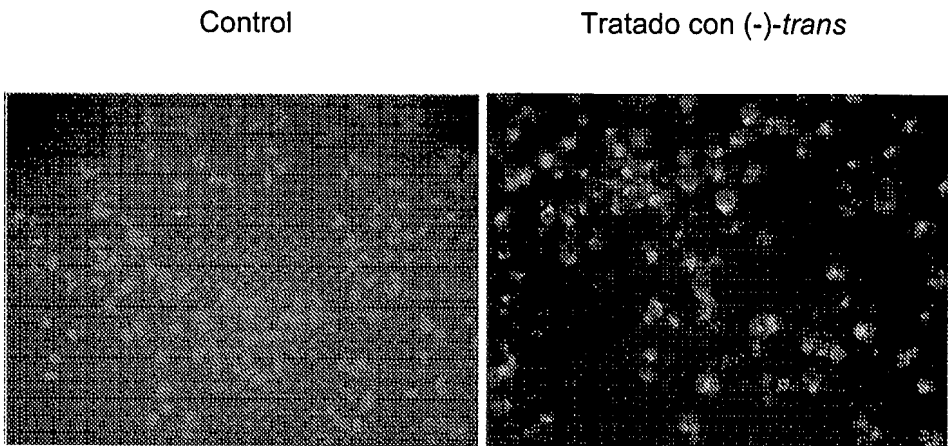


FIG. 6

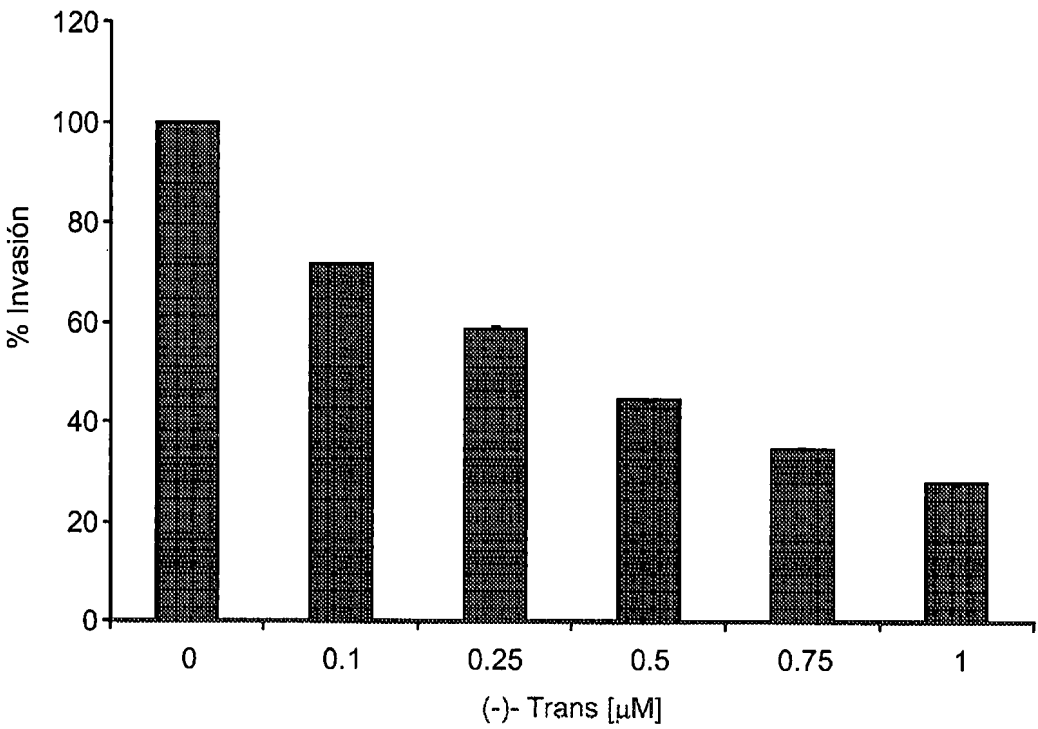


FIG. 7

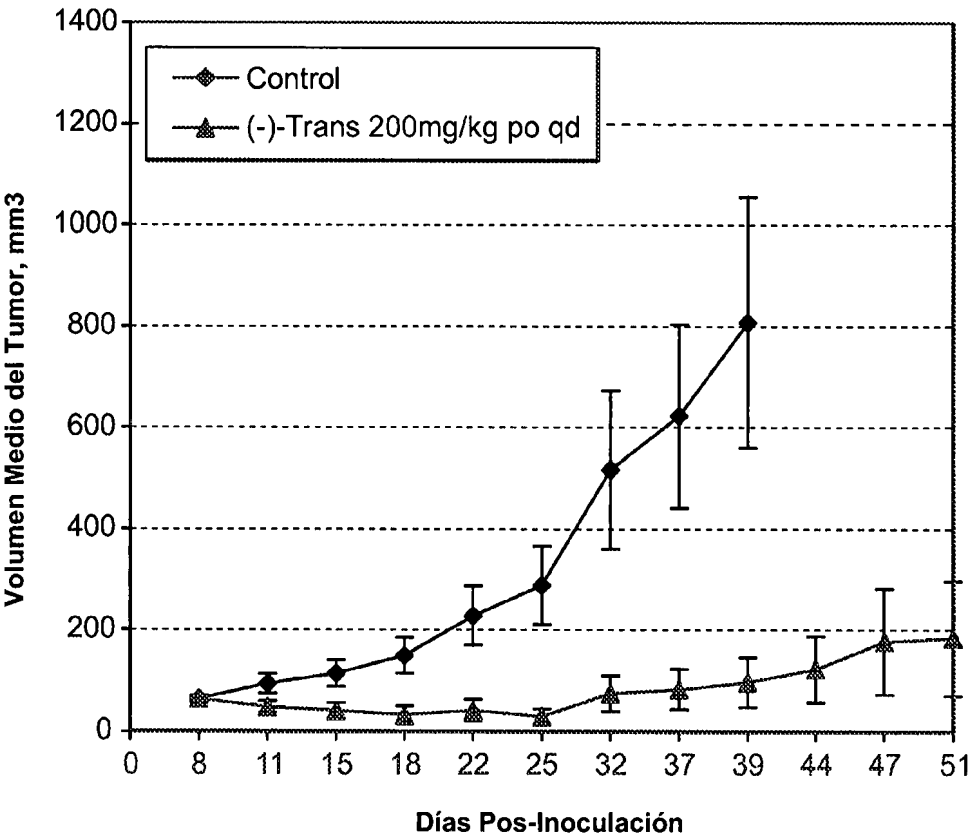


FIG. 8

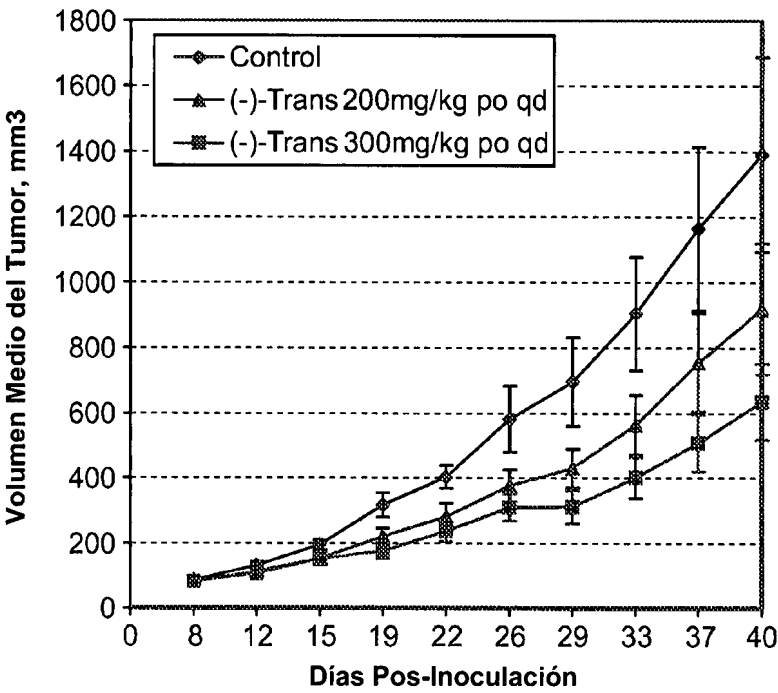


FIG. 9A

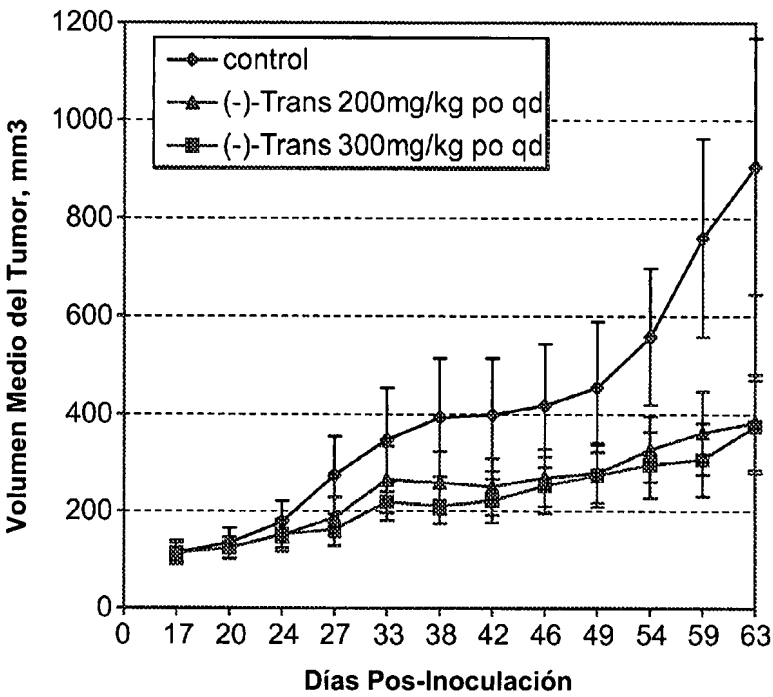


FIG. 9B

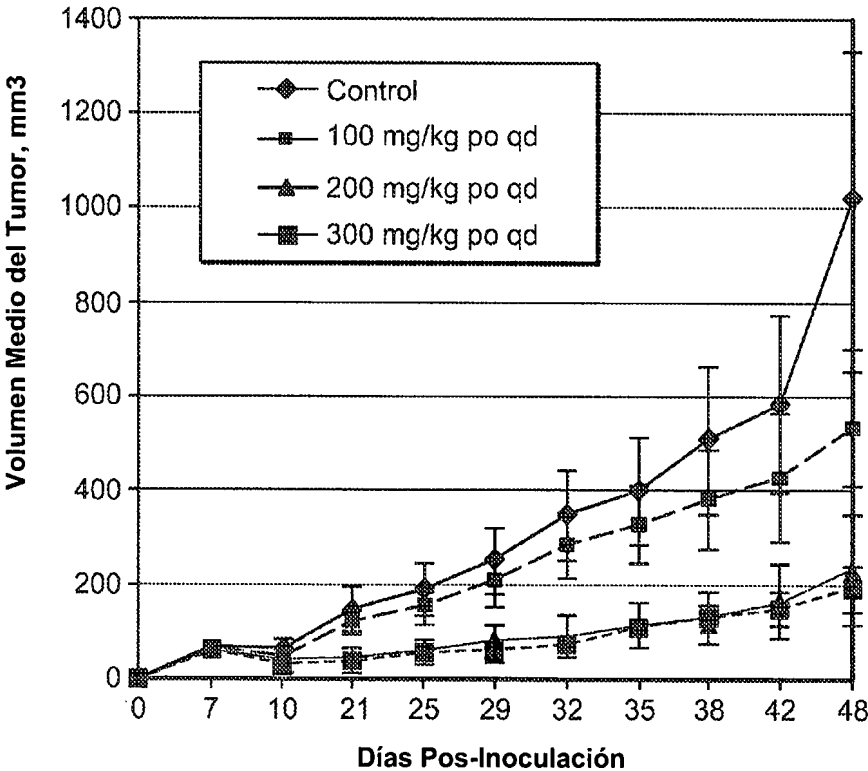


FIG. 9C

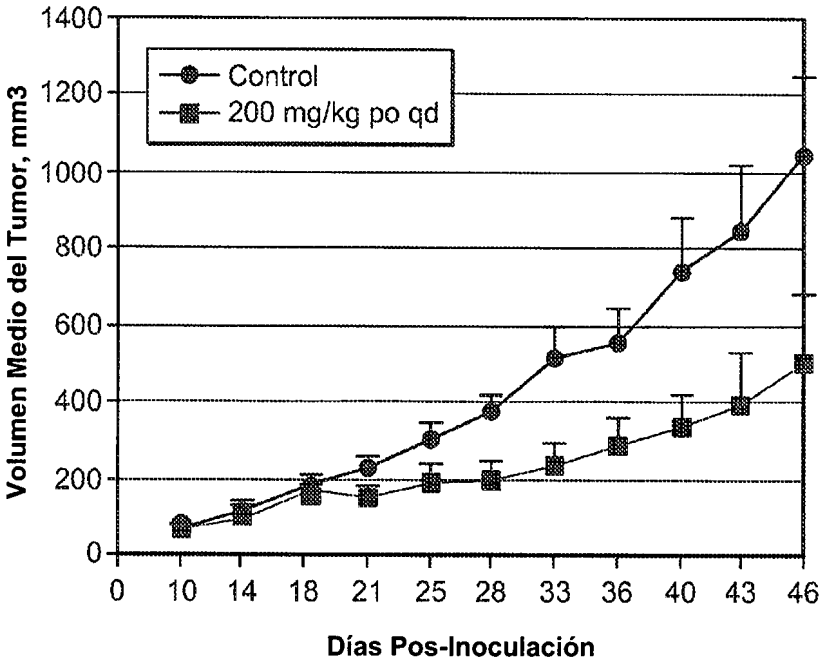
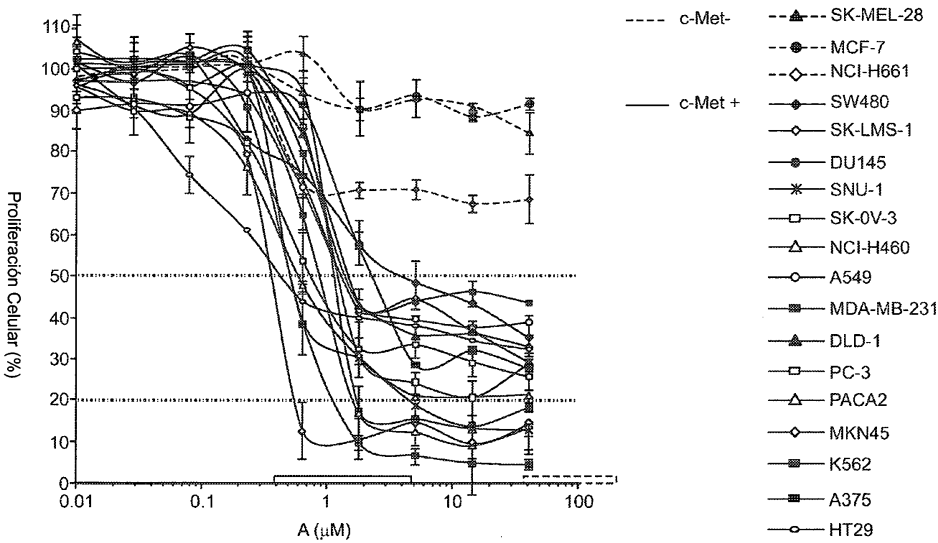


FIG. 9D



A= (-)-trans-3-(5,6-dihidro-4H-pirroló [3,2,1-ij] quinolin-1-il)-4-(1H-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona

FIG. 10

122

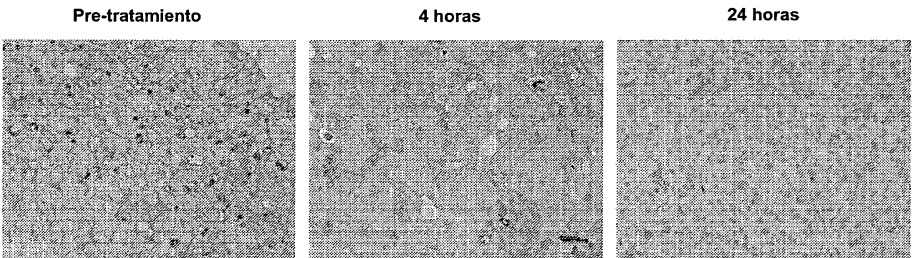
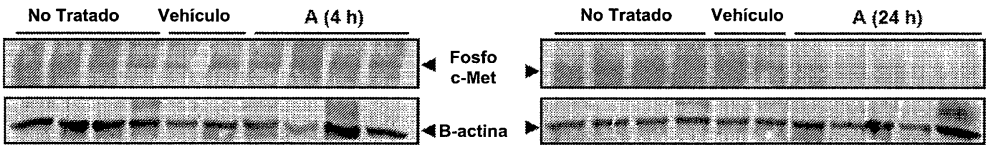


FIG. 11A



A= (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona

FIG. 11B

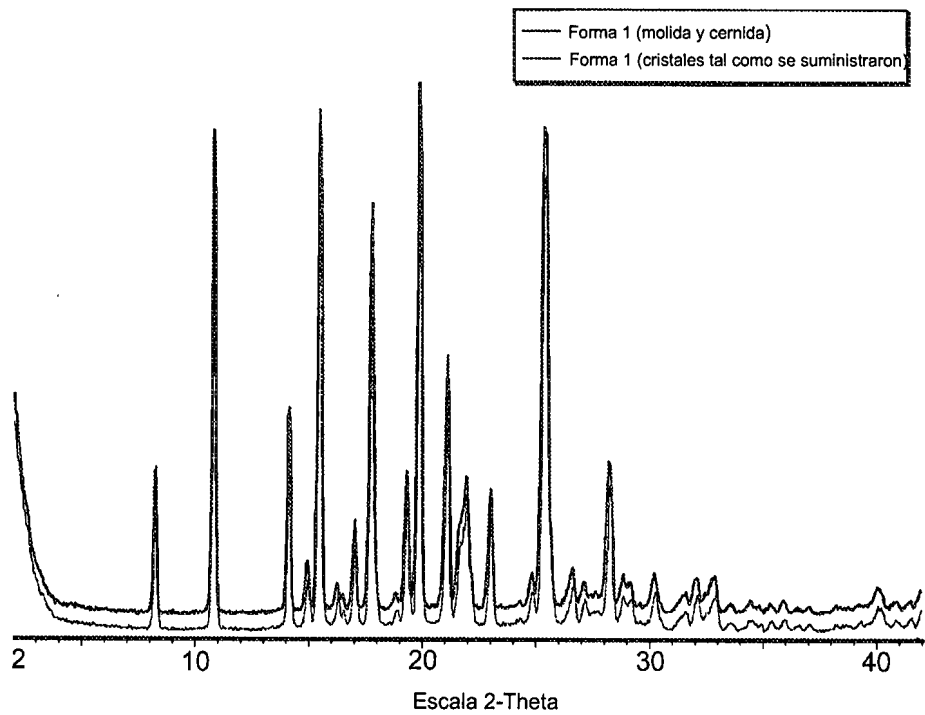


FIG. 12A

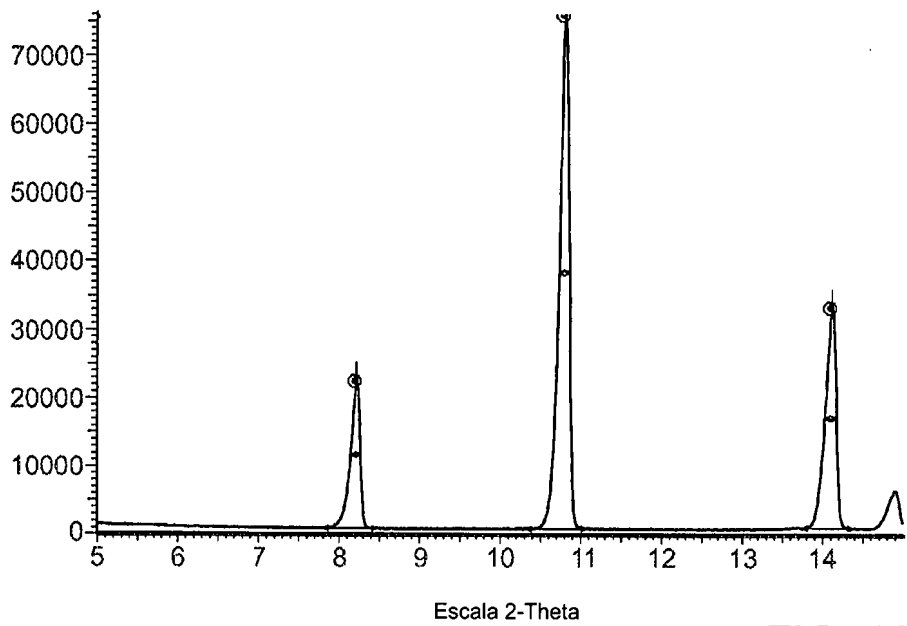


FIG. 12B

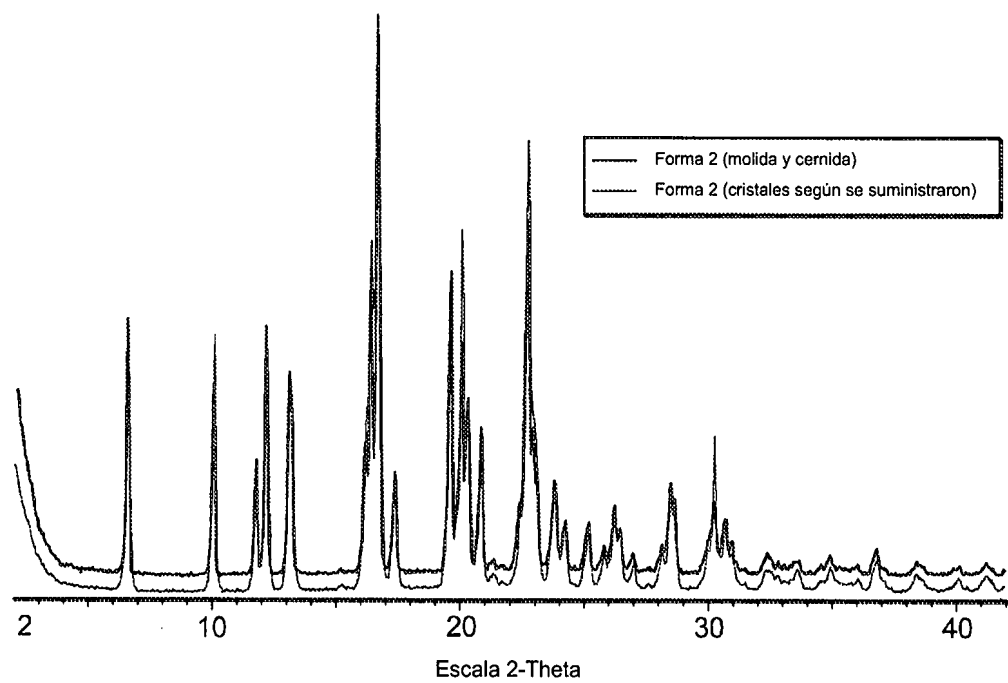


FIG. 13A

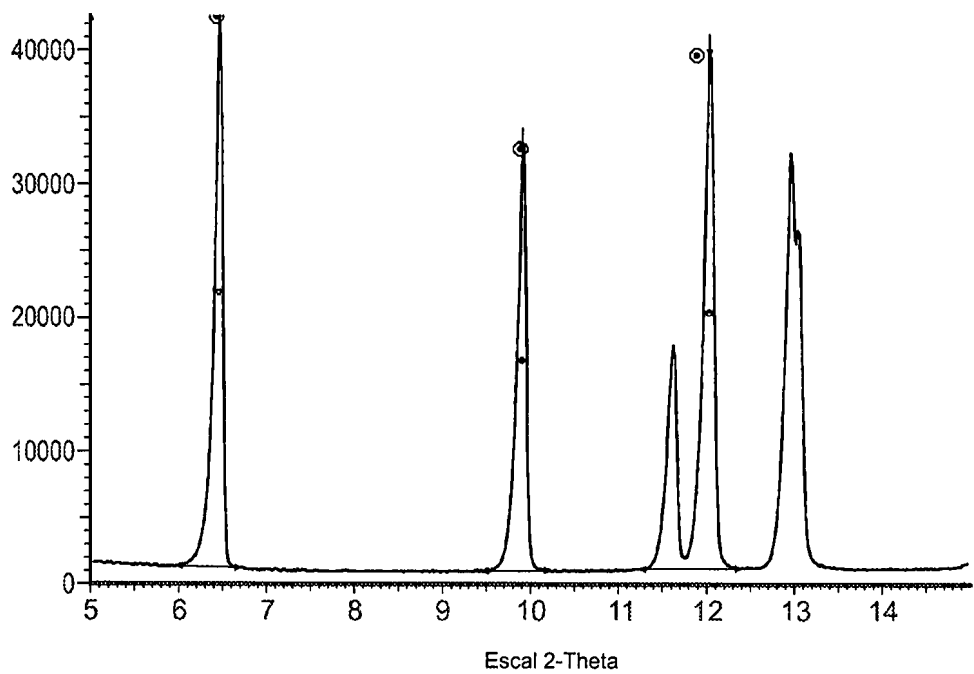


FIG. 13B

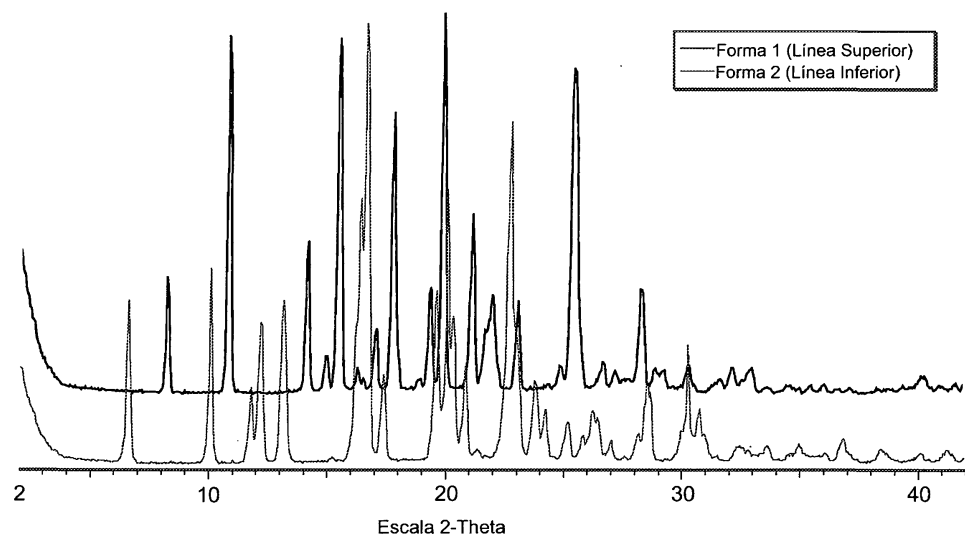


FIG. 14

15 de 17

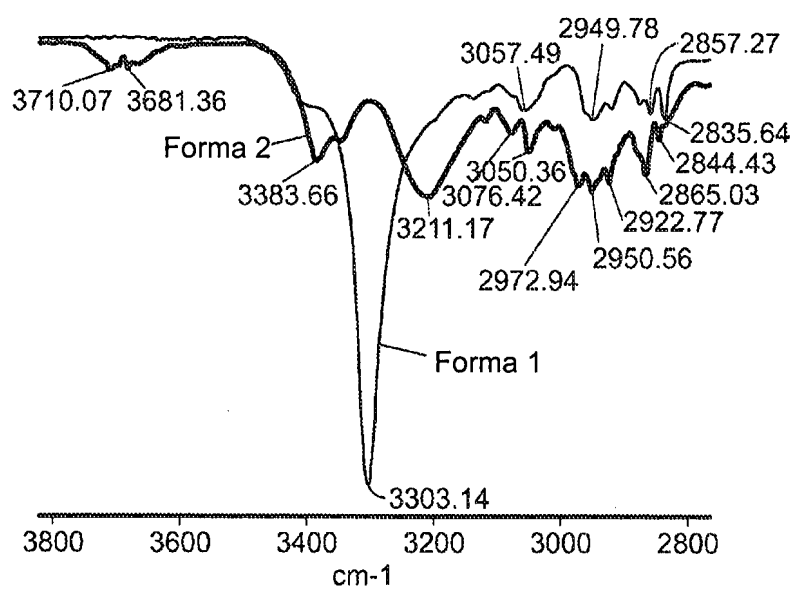


FIG. 15A

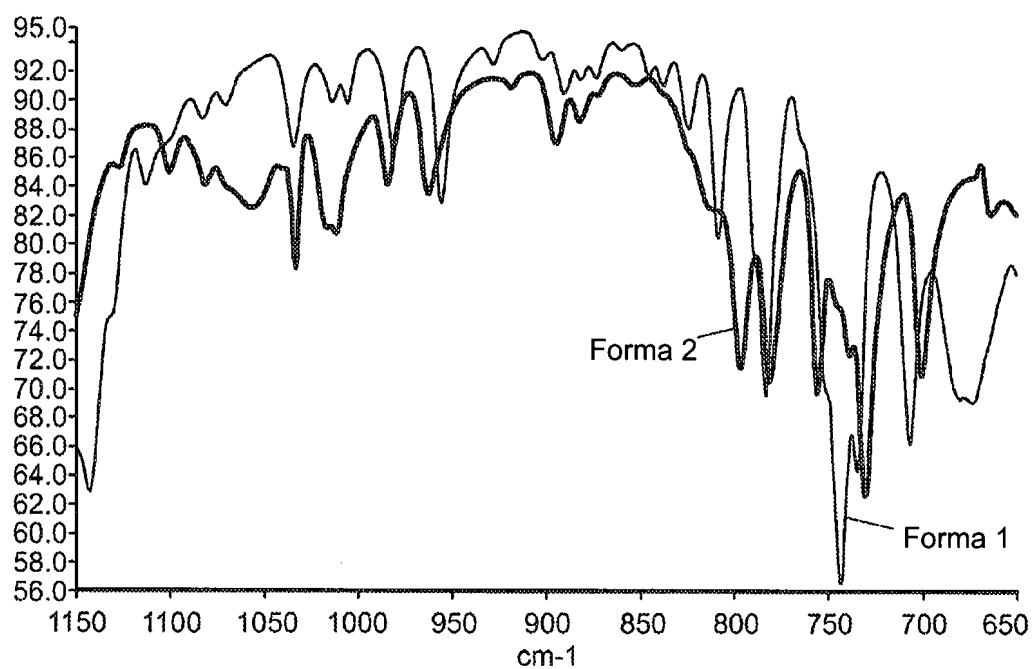


FIG. 15B

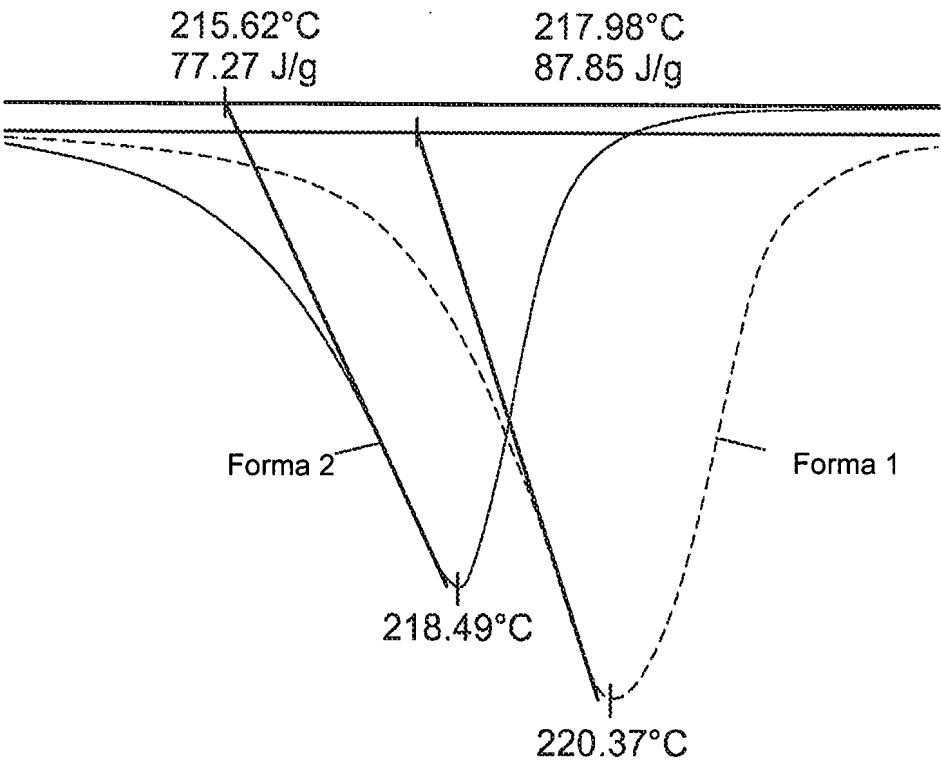
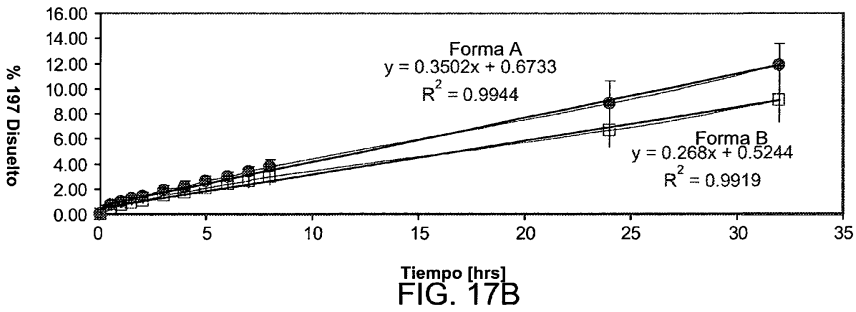
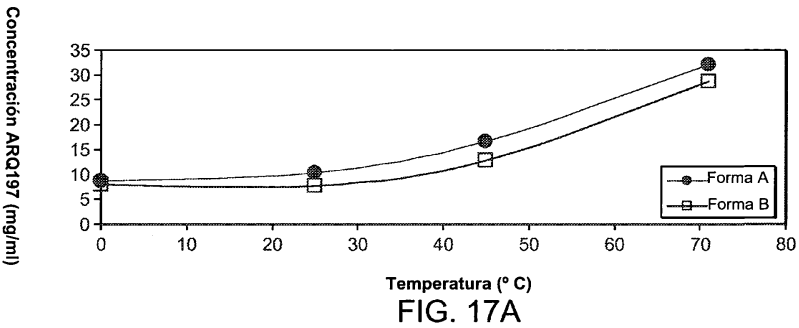


FIG. 16



TO: IVOR R. ELRIFI COMPANY: ONE FINANCIAL CENTER

**UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

MARCH 11, 2011

PTAS

IVOR R. ELRIFI
ONE FINANCIAL CENTER
MINTZ, LEVIN
BOSTON, MA 02111

501462603

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT DIVISION OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE MICROFILM COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE EMPLOYEE WHOSE NAME APPEARS ON THIS NOTICE AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT SERVICES BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 03/10/2011

REEL/FRAME: 025932/0056

NUMBER OF PAGES: 10

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNOR'S INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).
DOCKET NUMBER: 22596-561001U3

ASSIGNOR:

REED, DAVID P.

DOC DATE: 01/27/2011

ASSIGNOR:

BARNES, NEIL R.

DOC DATE: 01/24/2011

ASSIGNOR:

KANE, JOHN C.

DOC DATE: 01/25/2011

ASSIGNOR:

LEE, CHRISTOPHER A.

DOC DATE: 01/25/2011

ASSIGNOR:

CHEN, JIAN-XIE

DOC DATE: 01/25/2011

USPTO

3/21/2011 11:45:43 AM PAGE 3/00^F Fax Server

TO: IVOR R. ELRIFI COMPANY: ONE FINANCIAL CENTER

C25932/0056 PAGE 2

ASSIGNOR:

REDMON, MARTIN P.

DOC DATE: 01/25/2011

ASSIGNEE:

ARQJLE, INC.

19 PRESIDENTIAL WAY

WOBURN, MASSACHUSETTS 01801

APPLICATION NUMBER: 12975644

FILING DATE: 12/22/2010

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: PURIFIED FYRROLOQUINOLINYL-PYRROLIDINE-2,5-DIONE
COMPOSITIONS AND METHODS FOR PREPARING AND USING SAME

OCRUSER, EXAMINER

ASSIGNMENT SERVICES BRANCH

PUBLIC RECORDS DIVISION

TO: IVOR R. ELRIFI COMPANY: ONE FINANCIAL CENTER

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1
Stylesheet Version v1.103/10/2011
501462603

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT														
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT														
CONVEYING PARTY DATA															
<table border="1"><thead><tr><th>Name</th><th>Execution Date</th></tr></thead><tbody><tr><td>David P. Reed</td><td>01/27/2011</td></tr><tr><td>Neil R. Barnes</td><td>01/24/2011</td></tr><tr><td>John C. Kane</td><td>01/25/2011</td></tr><tr><td>Christopher A. Lee</td><td>01/25/2011</td></tr><tr><td>Jian-Xie Chen</td><td>01/25/2011</td></tr><tr><td>Martin P. Redmon</td><td>01/25/2011</td></tr></tbody></table>	Name	Execution Date	David P. Reed	01/27/2011	Neil R. Barnes	01/24/2011	John C. Kane	01/25/2011	Christopher A. Lee	01/25/2011	Jian-Xie Chen	01/25/2011	Martin P. Redmon	01/25/2011	
Name	Execution Date														
David P. Reed	01/27/2011														
Neil R. Barnes	01/24/2011														
John C. Kane	01/25/2011														
Christopher A. Lee	01/25/2011														
Jian-Xie Chen	01/25/2011														
Martin P. Redmon	01/25/2011														
RECEIVING PARTY DATA															
Name:	ARQULE, INC.														
Street Address:	19 Presidential Way														
City:	Woburn														
State/Country:	MASSACHUSETTS														
Postal Code:	01801														
PROPERTY NUMBERS Total: 1															
<table border="1"><thead><tr><th>Property Type</th><th>Number</th></tr></thead><tbody><tr><td>Application Number:</td><td>12975644</td></tr></tbody></table>	Property Type	Number	Application Number:	12975644											
Property Type	Number														
Application Number:	12975644														
CORRESPONDENCE DATA															
Fax Number:	(617)542-2241														
<i>Correspondence will be sent via US Mail when the fax attempt is unsuccessful.</i>															
Phone:	6175426000														
Email:	kricciarelli-wenson@mintz.com														
Correspondent Name:	Ivor R. Elrifi														
Address Line 1:	One Financial Center														
Address Line 2:	Mintz, Levin														
Address Line 4:	Boston, MASSACHUSETTS 02111														
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	22596-561001US														

OP \$40.00 12975644

USPTO

3/21/2011 11:45:43 AM PAGE 5/00

Fax Server

TO: IVOR R. ELRIFI COMPANY: ONE FINANCIAL CENTER

NAME OF SUBMITTER:	Matthew Pavao
Total Attachments: 8 source=22596-561001US Assignment#page1.tif source=22596-561001US Assignment#page2.tif source=22596-561001US Assignment#page3.tif source=22596-561001US Assignment#page4.tif source=22596-561001US Assignment#page5.tif source=22596-561001US Assignment#page6.tif source=22596-561001US Assignment#page7.tif source=22596-561001US Assignment#page8.tif	

134
EFS

Date of Deposit: March 10, 2011

Attorney Docket No. 22596-561001US

ASSIGNMENT

We, **David P. Reed, Neil R. Barnes, John C. Kane, Christopher A. Lee, Jian-Xie Chen and Martin P. Redmon**, the undersigned, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, confirm that we have sold and assigned, and do hereby assign, sell and transfer to **ARQULE, INC.** with offices at **19 Presidential Way, Woburn, MA 01801** and to its successors, assigns and legal representatives, collectively hereinafter referred to as the ASSIGNEE: (1) our entire right, title and interest for the United States and in all countries, in and to any and all inventions, discoveries and applications which are disclosed in the application for United States Letters Patent entitled:

PURIFIED PYRROLOQUINOLINYL-PYRROLIDINE-2,5-DIONE COMPOSITIONS AND METHODS FOR PREPARING AND USING SAME

filed with the U.S. Patent and Trademark Office on **December 22, 2010** and assigned Application No. **12/975,644**, including any subsequently filed utility applications, which claim priority to renewals, revivals, reissues, reexaminations, extensions, continuations and divisions thereof and any substitute applications therefore; (2) the full and complete right to file patent applications in the name of the ASSIGNEE, its designee, or in our names as the ASSIGNEE, or its designee's election, on the aforesaid inventions, discoveries and applications in all countries of the world; (3) the entire right, title and interest in and to any Letters Patent which may issue thereon in the United States or in any country, and any renewals, revivals, reissues, reexaminations and extensions thereof, and any patents of confirmation, registration and importation of the same; and (4) the entire right, title and interest in all Convention and Treaty Rights of all kinds thereon, including without limitation all rights of priority in any country of the world, in and to the above inventions, discoveries and applications.

We hereby authorize and request the competent authorities to grant and to issue any and all such Letters Patent in the United States and throughout the world to the ASSIGNEE of the entire right, title and interest therein, as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by us had this assignment, sale and transfer not been made.

We agree, at any time, upon the request of the ASSIGNEE, to execute and to deliver to the ASSIGNEE any additional applications for patents for said inventions and discoveries, or any part or parts thereof, and any applications for patents of confirmation, registration and importation based on any Letters Patent issuing on said inventions, discoveries, or applications and divisions, continuations, renewals, revivals, reissues, reexaminations and extensions thereof.

We further agree at any time to execute and to deliver upon request of the ASSIGNEE such additional documents, if any, as are necessary or desirable to secure patent protection on said inventions, discoveries and applications throughout all countries of the world, and otherwise to do the necessary to give full effect to and to perfect the rights of the ASSIGNEE under this Assignment, including the execution, delivery and procurement of any and all further documents evidencing this assignment, transfer and sale as may be necessary or desirable.

We hereby covenant that no assignment, sale, agreement or encumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment.

We further covenant that ASSIGNEE will, upon its request, be provided promptly with all pertinent facts and documents relating to said invention and said Letters Patent and legal equivalents as may be known and accessible to ASSIGNOR and will testify as to the same in any interference, litigation or proceeding related thereto and will promptly execute and deliver to ASSIGNEE or its legal representatives any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue and enforce said application, said invention and said Letters Patent and said equivalents thereof which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

Date: _____
Signature of: **David P. Reed**

State of _____
County of _____

Subscribed and sworn to before me this ____ day of _____.

Notary Public
My commission expires _____

Application No.: 12/975,644

Attorney Docket No. 22596-561001US

Date: _____

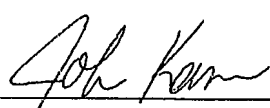
Signature of: Neil R. Barnes

State of _____
County of _____

Subscribed and sworn to before me this _____ day of _____.

Notary Public
My commission expires _____

Date: 01-25-2011


Signature of: John C. Kane

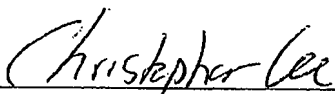
State of New York
County of Onondaga

Subscribed and sworn to before me this 25 day of January 2011.

DENNIS C. SNYDER
No. 01SN6125336
Notary Public, State of New York
Qualified in Onondaga County
My Commission Expires 8.4.2013


Notary Public
My commission expires 8.4.2013

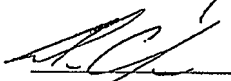
Date: 01-25-2011


Signature of: Christopher A. Lee

State of New York
County of Onondaga

Subscribed and sworn to before me this 25 day of January 2011.

DENNIS C. SNYDER
No. 01SN6125336
Notary Public, State of New York
Qualified in Onondaga County
My Commission Expires 8.4.2013


Notary Public
My commission expires 8.4.2013

Date: 1-25-2011

Jian-Xie Chen
Signature of: Jian-Xie Chen

State of New York
County of Onondaga

Subscribed and sworn to before me this 25 day of January 2011

Gary P. Lehmann
Notary Public, State of New York
No. 01LE6115785
Qualified in Onon. Co.,
My Commission Expires September 13, 2012

Gary P. Lehmann
Notary Public
My commission expires 9-13-2012

Date: _____

Signature of: Martin P. Redmon

State of _____
County of _____

Subscribed and sworn to before me this _____ day of _____.

Notary Public
My commission expires _____

EFS

Date of Deposit: March 10, 2011

Attorney Docket No. 22596-561001US

ASSIGNMENT

We, **David P. Reed, Neil R. Barnes, John C. Kane, Christopher A. Lee, Jian-Xie Chen and Martin P. Redmon**, the undersigned, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, confirm that we have sold and assigned, and do hereby assign, sell and transfer to **ARQULE, INC.** with offices at **19 Presidential Way, Woburn, MA 01801** and to its successors, assigns and legal representatives, collectively hereinafter referred to as the ASSIGNEE: (1) our entire right, title and interest for the United States and in all countries, in and to any and all inventions, discoveries and applications which are disclosed in the application for United States Letters Patent entitled:

PURIFIED PYRROLOQUINOLINYL-PYRROLIDINE-2,5-DIONE COMPOSITIONS AND METHODS FOR PREPARING AND USING SAME

filed with the U.S. Patent and Trademark Office on **December 22, 2010** and assigned Application No. **12/975,644**, including any subsequently filed utility applications, which claim priority to renewals, revivals, reissues, reexaminations, extensions, continuations and divisions thereof and any substitute applications therefore; (2) the full and complete right to file patent applications in the name of the ASSIGNEE, its designee, or in our names as the ASSIGNEE, or its designee's election, on the aforesaid inventions, discoveries and applications in all countries of the world; (3) the entire right, title and interest in and to any Letters Patent which may issue thereon in the United States or in any country, and any renewals, revivals, reissues, reexaminations and extensions thereof, and any patents of confirmation, registration and importation of the same; and (4) the entire right, title and interest in all Convention and Treaty Rights of all kinds thereon, including without limitation all rights of priority in any country of the world, in and to the above inventions, discoveries and applications.

We hereby authorize and request the competent authorities to grant and to issue any and all such Letters Patent in the United States and throughout the world to the ASSIGNEE of the entire right, title and interest therein, as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by us had this assignment, sale and transfer not been made.

We agree, at any time, upon the request of the ASSIGNEE, to execute and to deliver to the ASSIGNEE any additional applications for patents for said inventions and discoveries, or any part or parts thereof, and any applications for patents of confirmation, registration and importation based on any Letters Patent issuing on said inventions, discoveries, or applications and divisions, continuations, renewals, revivals, reissues, reexaminations and extensions thereof.

We further agree at any time to execute and to deliver upon request of the ASSIGNEE such additional documents, if any, as are necessary or desirable to secure patent protection on said inventions, discoveries and applications throughout all countries of the world, and otherwise to do the necessary to give full effect to and to perfect the rights of the ASSIGNEE under this Assignment, including the execution, delivery and procurement of any and all further documents evidencing this assignment, transfer and sale as may be necessary or desirable.

We hereby covenant that no assignment, sale, agreement or encumbrance has been or will be made or entered into which would conflict with this assignment.

We further covenant that ASSIGNEE will, upon its request, be provided promptly with all pertinent facts and documents relating to said invention and said Letters Patent and legal equivalents as may be known and accessible to ASSIGNOR and will testify as to the same in any interference, litigation or proceeding related thereto and will promptly execute and deliver to ASSIGNEE or its legal representatives any and all papers, instruments or affidavits required to apply for, obtain, maintain, issue and enforce said application, said invention and said Letters Patent and said equivalents thereof which may be necessary or desirable to carry out the purposes thereof.

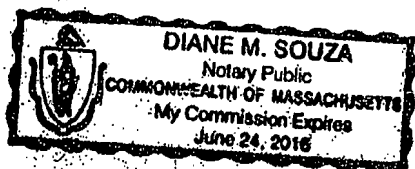
Date: 27 JAN 11

David P. Reed
Signature of: **David P. Reed**

Commonwealth
State of Massachusetts
County of Middlesex

Subscribed and sworn to before me this 27th day of January 2011

Diane M. Souza
Notary Public
My commission expires 6-24-16



Application No.: 12/975,644

Attorney Docket No. 22596-561001US

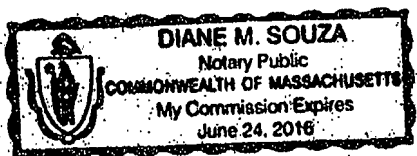
Date: 24 Jan 2011

Neil R. Barnes 24 Jan 2011

Signature of: Neil R. Barnes

Commonwealth
State of Massachusetts
County of Norfolk

Subscribed and sworn to before me this 24th day of January 2011



Diane M. Souza
Notary Public
My commission expires 6-24-16

Date: _____

Signature of: John C. Kane

State of _____
County of _____

Subscribed and sworn to before me this _____ day of _____.

Notary Public
My commission expires _____

Date: _____

Signature of: Christopher A. Lee

State of _____
County of _____

Subscribed and sworn to before me this _____ day of _____.

Notary Public
My commission expires _____

Date: _____

Signature of: Jian-Xie Chen

State of _____

County of _____

Subscribed and sworn to before me this _____ day of _____.

Notary Public

My commission expires _____

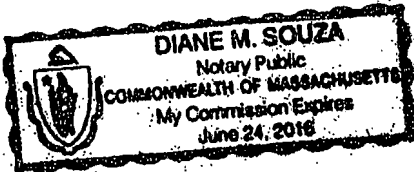
Date: 25-Jan-2011

M. P. Redmon

Signature of: Martin P. Redmon

Commonwealth
State of Massachusetts
County of Middlesex

Subscribed and sworn to before me this 25th day of January 2011.



Diane M. Souza

Notary Public

My commission expires 6.24.16

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS
SUBSECRETARIO DE COMERCIO PARA PROPIEDAD INTELECTUAL Y
DIRECTOR DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

Código de Barras
*501462603

Marzo 11, 2011

PTAS

IVOR R. ELRIFI
ONE FINANCIAL CENTER
MINTZ, LEVIN
BOSTON, MA 32111

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS
AVISO DE INSCRIPCIÓN DE DOCUMENTO DE CESION

El documento adjunto ha sido inscrito por la División de Cesiones de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos. Una copia microfilmada completa se encuentra disponible en el cuarto de búsqueda de cesiones en el número de rollo y marco bajo referenciados.

Por favor revise toda la información contenida en este aviso. La información contenida en este aviso de inscripción refleja los datos presentes en el sistema de cesiones de patentes y marcas. Si usted llegare a encontrar errores o tuviere alguna pregunta relacionada con este aviso, usted podrá contactar al empleado cuyo nombre aparece en este aviso al 571-272-3350. Por favor envíe solicitud de corrección a: Oficina de Marcas y patentes de los Estados Unidos, Parada de Correo: Sucursal de Servicios de Cesión, P.O.Box 1450, Alexandria, VA 22313.

Fecha de Inscripción: 03/10/2011
Riel/Marco: 025932/0056/0157
Número de Páginas: 10

Memorial: Cesión del Interés del Cedente (Ver Documento ara detalles)

Número de Expediente: 22596-56100US

Cedente:

Reed, David P.

Fecha de Documento: 01/27/2011

Cedente:

Darnes, Neil R.

Fecha de Documento: 01/24/2011

Cedente:

Kane, Jonhn C.

Fecha de Documento: 01/25/2011

Cedente:

Lee, Christopher A.

Fecha de Documento: 01/25/2011

Cedente:

Chen, Jian-Xie

Fecha de Documento: 01/25/2011

Cedente:

Redmon, Martin P.
Fecha de Documento: 01/25/2011

Cesionario:
Arqule, Inc.
19 Presidential Way
Woburn, Massachusetts 01801

Número de Solicitud: 12975644
Fecha de Presentación: 12/22/2010
Número de Patente:
Fecha de Expedición:
Título: COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLINILA-PIRROLIDINA-2.5 DIONA PURIFICADA Y LOS
METODOS PARA PREPARALA Y USARLA

OCRUSER, Examinador
Sucursal de Servicios de Cesión
División de Registros Públicos

CESION DE PATENTE

Versión Electrónica v1.1 03/10/2011
Versión de Estilo de Hoja v1.1 501462603

TIPO DE PRESENTACIÓN:	CESION NUEVA
NATURALEZA DE LA TRANSFERENCIA:	CESIÓN

DATOS DE LA PARTE QUE TRANSFIERE

Nombre	Fecha Suscripción
David P. Reed	01/27/2011
Neil R. Barnes	01/24/2011
John C. Kane	01/25/2011
Christopher A. Lee	01/25/2011
Jian-Xie Chen	01/25/2011
Martin P. Redmon	01/25/2011

DATOS DE LA PARTE QUE RECIBE

Nombre:	ARQULE, INC.
Dirección Calle:	19 Presidential Way
Ciudad:	Woburn
Estado/País:	MASSACHUSETTS
Código Postal:	01801

NUMEROS DE PROPIEDAD Total : 1

Tipo de Propiedad	Número
Numero de Solicitud	12975644

DATOS DE CORRESPONDENCIA

Número de Fax: (817)542-2241
La Correspondencia será enviada por Correo de los EU cuando por fax no sea exitoso

Teléfono: 6175426000	
Correo Electrónico: kricciarelli-wenson@mintz.com	
Nombre corresponsal: Ivor R. Elrifi	
Dirección Línea 1: One Financial Center	
Dirección Línea 2: Mintz, Levin	
Dirección Línea 4: Boston, MASSACHUSETTS 02111	
NUMERO EXPEDIENTE ABOGADO:	22596-56100US
NOMBRE DE QUIEN PRESENTA:	Matthew Pavao
Total Anexos: 8	
Fuente=22596-56100US Assignment#page1.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page2.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page3.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page4.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page5.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page6.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page7.tif	
Fuente= 22596-56100US Assignment#page8.tif	

EFS

Fecha de Deposito: Marzo 10, 2011

Expediente de Abogado No. 22596-561001US

CESION

Nosotros, David P. Reed, Neil R. Barnes, John C. Kane, Christopher A. Lee, Jian-Xie Chen y Martin P. Redmon, los suscritos, por una buena y valorable contraprestación, cuyo recibo por el presente se reconoce, confirmamos que hemos vendido y cedido, y por el presente cedemos, vendemos y transferimos a ARQULE, INC., con oficinas en 19 Presidential Way, Wobourn, MA 01801 y a sus sucesores, cesionarios y representantes legales, colectivamente, en adelante denominados como el CESIONARIO: (1) nuestro completo derecho, titulo e interés para los Estados Unidos y en todos los países, en y para cualquiera y todas las invenciones, descubrimientos y solicitudes que se divulgan en la solicitud para el Certificado de Patente de los Estados Unidos titulado:

COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLINILA-PIRROLIDINA-2.5 DIONA PURIFICADA Y LOS METODOS PARA PREPARALA Y USARLA

Presentada ante la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos el 22 de Diciembre de 2010 y con número de Solicitud asignado 12/975,644, incluyendo cualquier solicitud de utilidad presentada posteriormente, que reivindique prioridad para renovaciones, resurgimientos, re-expediciones, re-exámenes, prorrogas, continuaciones y divisiones de la misma y cualquier solicitud sustituta de la misma; (2) el total y completo derecho para presentar solicitudes de patente a nombre del CESIONARIO, su designado, o nuestros nombre como el CESIONARIO o su designado puedan elegir, sobre las antes mencionadas invenciones, descubrimientos y solicitudes en todos los países del mundo; (3) el completo derecho, titulo e interés en y para cualesquiera certificados de patente que se puedan expedir sobre ellas en los Estados Unidos o en cualquier país, y cualesquiera renovaciones, resurgimientos, re-expediciones, re-exámenes y prorrogas de las mismas, y cualesquiera patentes de confirmación, registro e importación de las mismas; y (4) el completo derecho, titulo e interés en los Derechos de Tratados y Convenciones de todo tipo sobre ellas, incluyendo, sin limitación, todos los derechos de prioridad en cualquier país del mundo, en y para las antes mencionadas invenciones, descubrimientos y solicitudes.

Nosotros por el presente autorizamos y solicitamos a las autoridades competentes otorgar y expedir cualesquiera y todas los tales Certificados de Patente en los Estados Unidos y a lo largo del mundo al CESIONARIO del completo derecho, titulo e interés en ellas, como si total y completamente las mismas

hubieran sido poseídas y disfrutadas por nosotros si esta cesión, venta y transferencia no se hubiere llevado a cabo.

Nosotros acordamos, en cualquier momento, bajo solicitud del CESIONARIO, suscribir y entregar al CESIONARIO cualesquiera solicitudes adicionales para patentes para las mencionadas invenciones y descubrimientos, o cualquier parte de las mismas, y cualesquiera solicitudes para patentes de confirmación, registro e importación con base en cualquier Certificado de Patente que se expida sobre tales invenciones, descubrimientos o solicitudes y divisiones, continuaciones, renovaciones, resurgimientos, re-expediciones, re-exámenes y prórrogas de las mismas.

Además, acordamos que en cualquier momento suscribiremos y entregaremos bajo solicitud del CESIONARIO tales documentos adicionales, si los hubiere, como puedan ser necesarios o deseables para asegurar la protección de patente de tales invenciones, descubrimientos y solicitudes a lo largo de todos los países del mundo, y de otra manera hacer lo que sea necesario para dar efecto completo y para perfeccionar los derechos del CESIONARIO bajo esta Cesión, incluyendo la suscripción, entrega y obtención de cualesquiera y todos los documentos adicionales que prueben esta cesión, transferencia y venta como puedan ser necesarios o deseables.

Nosotros por el presente declaramos que no se ha efectuado o celebrado ninguna cesión, venta, acuerdo o gravamen que pueda entrar en conflicto con esta cesión.

Además declaramos que el CESIONARIO bajo su solicitud, se le suministrará lo más pronto posible con todos los hechos y documentos pertinentes relacionados con la mencionada invención y tales Certificados de Patente y equivalentes legales como puedan ser reconocidos y accesibles para el CEDENTE y dará testimonio en cuanto a los mismos en cualquier proceso de interferencia o litigio relacionados con ello y suscribirá y entregará tan pronto como sea posible al CESIONARIO o a sus representantes legales cualesquiera y todos los papeles, instrumentos o declaraciones juramentadas requeridas para solicitar, obtener, mantener, expedir y hacer cumplir la mencionada solicitud, la mencionada invención y los mencionados Certificados de Patente y los mencionados equivalentes de los mismos que puedan ser necesarios o deseables para cumplir con los fines del presente.

Fecha: 01-25-2011

(Firmado)

Firma de: John C. Kane

Estado de Nueva York
Condado de Onondaga

Suscrito y juramentado ante mí este día 25 de Enero de 2011.

(Firmado)

Notario Público

Mi Comisión expira 8-4-2013

Sello a tinta: Dennis C. Snyder, No. 0SN6125336, Notario Público, Estado de Nueva York, Idóneo en el Condado de Onondaga, Mi comisión expira el 8-4-2013.

Fecha: 01-25-2011

(Firmado)

Firma de: Christopher A. Lee

Estado de Nueva York
Condado de Onondaga

Suscrito y juramentado ante mí este día 25 de Enero de 2011.

(Firmado)
Notario Público
Mi Comisión expira 8-4-2013

Sello a tinta: Dennis C. Snyder, No. 0SN6125336, Notario Público, Estado de Nueva York, Idóneo en el Condado de Onondaga, Mi comisión expira el 8-4-2013.

Fecha: 01-25-2011

(Firmado)
Firma de: Jian-Xie Chen

Estado de Nueva York
Condado de Onondaga

Suscrito y juramentado ante mí este día 25 de Enero de 2011.

(Firmado)
Notario Público
Mi Comisión expira 9-13-2012

Sello a tinta: Gary P. Lehmann, No. 01LE615785, Notario Público, Estado de Nueva York, Idóneo en el Condado de Onondaga, Mi comisión expira Septiembre 13, 2012.

A continuación el mismo texto anterior de la Cesión con las siguientes firmas:

Fecha: 01-25-2011

(Firmado)
Firma de: David P. Reed

Mancomunidad de Massachusetts
Condado Middlesex

Suscrito y juramentado ante mí este día 25 de Enero de 2011.

(Firmado)
Notario Público
Mi Comisión expira 6-24-16

Sello a tinta: Diane M Souza, Notario Público, MANCOMUNIDAD DE MASSACHUSETTS, Mi comisión expira el Junio 24, 2016.

Fecha: Enero 24, 2011

(Firmado)
Firma de: Neil R. Barnes

Mancomunidad de Massachusetts
Condado de Middlesex

Suscrito y juramentado ante mí este día 24 de Enero de 2011.

(Firmado)
Notario Público
Mi Comisión expira 6-24-16

Sello a tinta: Diane M Souza, Notario Público, MANCOMUNIDAD DE MASSACHUSETTS, Mi comisión expira en Junio 24, 2016.

Fecha: Enero 25, 2011

(Firmado)
Firma de: Martin P. Redmon

Mancomunidad de Massachusetts
Condado de Middlesex

Suscrito y juramentado ante mí este día 25 de Enero de 2011.

(Firmado)

Notario Público

Mi Comisión expira 6-24-16

Sello a tinta: Diane M Souza, Notario Público, MANCOMUNIDAD DE MASSACHUSETTS, Mi comisión expira el Junio 24, 2016.

146

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio

UPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0074253

Bogotá D.C., Julio 23 de 2012 - 11:48:43

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	55583	04/06/2012		5.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63607	25/06/2012		260.100.00
RECIBO DE CA	999999999	63672	25/06/2012		1.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63673	25/06/2012		1.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63674	25/06/2012		1.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63675	25/06/2012		1.000.00
RECIBO DE CA	999999999	63676	25/06/2012		1.000.00
RECIBO DE CA	999999999	66460	03/07/2012		750.000.00
RECIBO DE CA	999999999	71399	13/07/2012		100.000.00
RECIBO DE CA	999999999	71400	13/07/2012		100.000.00
RECIBO DE CA	999999999	72864	17/07/2012		820.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
68 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	30.000.00	2.040.000.00
			\$2.040.000.00

SON: **DOS MILLONES CUARENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-122679- 00000-0000

Fecha: 2012-07-23 11:56:55 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION Folios: 147

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

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

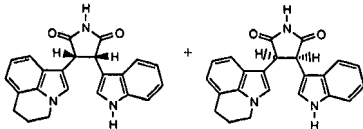
Julio 23 de 2012 - 11:48:47

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD FASE NACIONAL PCT	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) Prioridad 61/289,563 (32) Fecha 2009/12/23 (33) País US (51) Int Cl: A61K 031/417 (71) Solicitante(s) ARQULE, INC. (72) Inventor(es) DAVID P. REED Y OTROS (74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 2012/07/23 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 2010/12/21 No. de solicitud PCT/US2010/061625 (87) Publicación internacional Fecha: 2011/06/30 N° publicación: WO 2011/079142 A3	
(54) Titulo: COMPOSICIONES DE PIRROLOQUINOLINIL-PIRROLIDIN-2,5-DIONA PURIFICADA Y MÉTODOS DE PREPARARLAS Y EMPLEARLAS	

Resumen:

La presente invención se refiere a un polimorfo de forma 1 y forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. La presente invención se refiere asimismo a compuestos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona que tienen una pureza quiral de más de 99%, y a métodos de preparación de estos compuestos. La presente invención se refiere igualmente a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona. La presente invención proporciona métodos de tratar un trastorno proliferativo celular, tal como cáncer, administrando a un sujeto necesitado de ello una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que contiene (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona, que tiene una pureza quiral de más de 99% o un polimorfo de forma 1 y forma 2 de (-)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2,5-diona.

(±)-*cis*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4-(1*H*-indol-3-il) pirrolidin-2, 5-diona



(±)-*trans*-3-(5,6-dihidro-4*H*-pirrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-il)-4(1*H*-indol-3-il) pirrolidini-2, 5-diona.

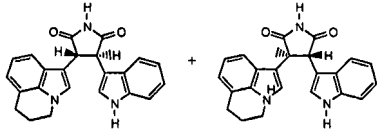


FIG. 1



No. 12-122679- -00000-0000

Fecha: 2012-07-23 11:56:55 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 147

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

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

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

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

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño.
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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