



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

07-21211

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: "RECIPIENTE DE CONSUMIBLES CON UN INSERTO ALOJADO"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL: A21D 10/02

71. SOLICITANTE: WYETH

DOMICILIO: NUEVA JERSEY, ESTADOS UNIDOS

74. APODERADO: ALVARO CORREA ORDOÑEZ
T.P.No.20.281

22. BOGOTA, D.C.; MARZO 2, 2007

FM: 02-04-2007

C-2007

BOGOTÁ-020-037200-V1-D0C

SS

PETITORIO

00001

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 07-021211- -00000-0000

Fec: 2007-03-02 18:05:20 Dep. 2020 NUECREACIONES

Tra. 11 PATENTE

Evo: 378 FASE NACIONAL

Act 411 PRESENTACION Folios: 288

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE :

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

②

SOLICITANTE

(71)

Nombre: WYETH

Dirección: Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940-0874 Estados Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio: Nueva Jersey, Estados Unidos

Lugar de Constitución: Delaware, Estados Unidos

Teléfono:

Fax:

E-Mail

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

Dirección: Avenida 82 No.10-62 Piso 6

Teléfono: 634 1500

Fax: 378 2211

E-Mail: oficina.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

79.143.386 de
Usaquén

TP 20.281

④

INVENTOR (ES)

(72)

Nombre: STEFFAN, Robert John; MOORE, William Jay; TRYBULSKI, Eugene J. y MOLINARI, Albert John

Dirección: 253 Wheatsteeff Lane, Langhorne, PA 19047, Estados Unidos; 108 Fox Run Drive, Collegeville, PA 19426, Estados Unidos; 3432 Manor Road, Huntingdon Valley, PA 19008, Estados Unidos; 1053 Overlook Drive, Pottstown, PA 19464-2979, Estados Unidos, respectivamente.

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidenses

⑤

PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/US2005/031053

Fecha 30-AGO-05

Publicación Internacional No. WO 2006/028875

Fecha 18-MAR-06

⑥

Título (54)

FENOLES DE CARBONILO FENANTRIDINA COMO MODULADORES DE CITOQUINA

⑦

Clasificación Internacional (51)

A61K 31/473, A61P 17/06, A61P 19/02, A61P 29/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 9/10, C07D 221/12

⑧

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

02-SEP-04

(31) Número de Solicitud

60/606,784

⑨

Comprobante de pago No.

07-2505, 07-8700, 06-85218 y 06-85219

Fecha

12-ene-7, 30-ene-7, 3-nov-8, 3-nov-8

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

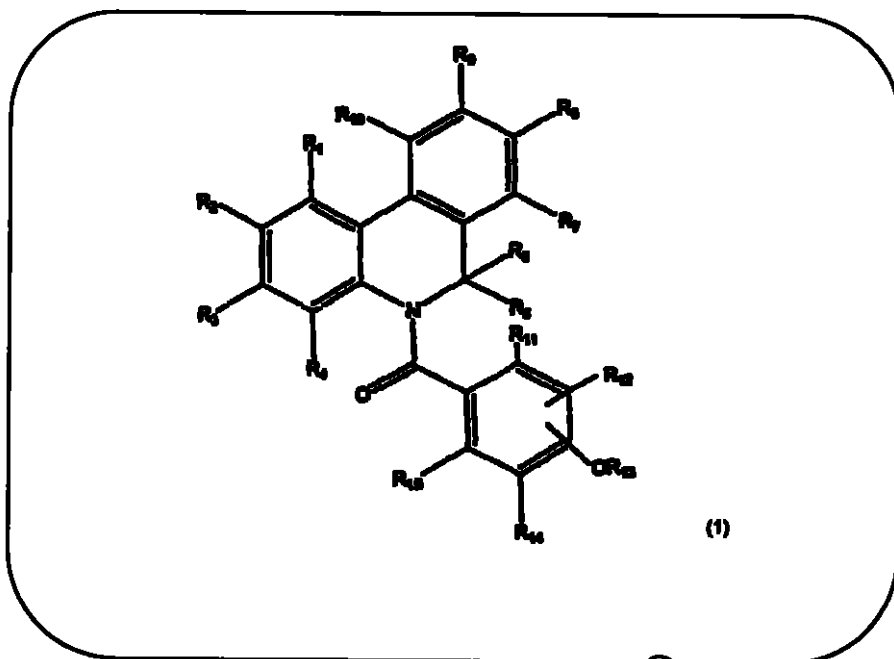
10

ANEXOS

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

11

FIGURA CARACTERISTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

ALVARO CARRERA ORDÓÑEZ

FIRMA:

C.C. 79.143.366

T.P. 20.281

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

0253
0001

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 85,218
FECHA : NOVIEMBRE 3 DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-021211- -00000-0000
Fec: 2007-03-02 18:05:20 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tm. 11 PATENTEYH
Evo: 378 FASENACIONALI
An 411 PRESENTACION Folio: 708

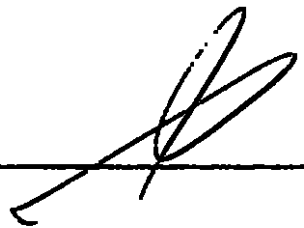
***** CONSIGNACION *****

SITIANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ORLANDO LINARES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	54663178	03/11/2006	126,285,000.

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	30005-01-06	REGISTRO DE CESION, CAMBIO NOM	
		13 NOMBRES Y ENSENAS COMERCIALES, MAR	234,000.00
		TOTAL :	234,000.00

SUN: DOSCIENTOS TREINTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

0 002 025 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 85,219
FECHA : NOVIEMBRE 3 DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-021211- -00000-0000
Fee: 2007-03-02 16:05:20 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTE/II
Eve: 378 FASENACIONALI
Act 411 REPRESENTACION Follios: 788

***** CONSIGNACION *****

SITIANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. BANC
ORLANDO LINARES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	34463178	03/11/2006	126,285,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	30005-01-06	REGISTRO DE CESION, CAMBIO NOM	
		13 NOMBRES Y ENSENAS COMERCIALES, MAR	234,000.
		TOTAL :	\$ 234,000.

SON: DOSCIENTOS TREINTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

002

008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 8,700
: ENERO 30 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-021211- -00000-0000
Fee: 2007-03-02 18:05:20 Dep. 2020 NUECREACIONES
Trib. 11 PATENTEYII
Evo: 370 FASENACIONALI
A-411 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ORLANDO LINARES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	64180719	30/01/2007	58,635,000.00

***** CONCEPTO *****

T. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	21 CERTIFICACIONES	11,000.
TOTAL :		\$ 11,000.00

N: ONCE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

001

004

6.

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 7 - 2,705
FECHA : ENERO 12 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-021211- -00000-0000
Fee: 2007-03-02 18:05:20 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEMII
Eve: 370 FASENACIONALI
Am 411 PRESENTACION
Folio: 200

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ORLANDO LINARES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	64321256	11/01/2007	71,059,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	998 VALOR COMPLEMENTO TARIFA AGO ANTR
			TOTAL : 3,000.00

SON: TRES MIL PESOS



RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 260207 del inglés al español realizada por Jaime Armando Garavito Burgos, cédula de ciudadanía No. 19.130.702 de Bogotá, Traductor e Intérprete Oficial inglés-español-inglés según Resolución No. 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia

PODER OTORGADO POR WYETH

APOSTILLA

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. Ha sido firmado por MICHELLE L MC GOWAN
3. Quien actúa en calidad de NOTARIO PÚBLICO DE NUEVA JERSEY
4. Lleva el sello de MICHELLE L MC GOWAN NOTARIO

Certificado

5. En Trenton, Nueva Jersey
6. El 11 de enero de 2007
7. Por Bradley Abelow, Tesorero de Nueva Jersey
8. N° A280417
9. Sello (Aparece adherido sello dorado)
10. Firma (firmado) Bradley Abelow

Jaime A. Garavito B.
JAIME A. GARAVITO B.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
Res 034 de Enero 11 de 1983
MINISTERIO DE JUSTICIA

Texto en inglés y en español mediante el cual **WYETH** con oficinas en Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, Estados Unidos de América, otorga poder a **ÁLVARO CORREA ORDÓÑEZ y/o OLGA GEORGETTE OTERO y/o RICARDO METKE y/o JUAN PABLO CONCHA** todos miembros de la firma de abogados Raisbeck, Lara, Rodríguez & Rueda domiciliada en Bogotá, D.C., Colombia y ratifica todo lo actuado en derecho hasta el momento por cualquiera de los mencionados

apoderados con respecto a la solicitud de patente en Colombia titulada
**"FENOLES DE CARBONIL FENANTRIDINA COMO MODULADORES DE
 CITOQUINA"**

Dado y firmado a los 10 días del mes de enero de 2007

WYETH

(Firma ilegible)

William H. Calnan; Subsecretario

Jaime A. Garavito B.
JAIME A. GARAVITO B.
 TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
 Res 034 de Enero 11 de 1983
 MINISTERIO DE JUSTICIA

ESTADO DE NUEVA JERSEY)

DECLARACIÓN JURAMENTADA

CONDADO DE MORRIS)

Hoy 10 de enero de 2007, compareció ante mí personalmente William H. Calnan, Subsecretario de Wyeth, a quien conozco y de quien doy fe se trata de la persona descrita en el anterior instrumento y quien suscribió el mismo y reconoció ante mí haberlo suscrito.

(Firmado) Michelle L. McGowan, Notario Público

(Aparece sello realizado que dice: "Michelle L. McGowan, Notario Público, Nueva Jersey")

(Sello en tinta que dice: "Michelle L. McGowan, Notario Público, Estado de Nueva Jersey, No. 2108903. Calificado en el Condado de Morris. Comisión vence el 09 de febrero de 2011")

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

Jaime A. Garavito B.

Jaime Armando Garavito Burgos

c.c. N° 19.130.702 de Bogotá

Traductor e Intérprete Oficial según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia

BOGDM5 # 70959

0 0079

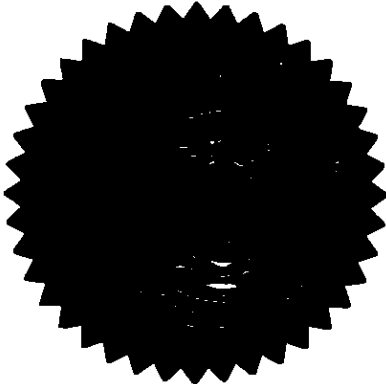
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
MICHELLE L MC GOWAN
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
MICHELLE L MC GOWAN, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 11TH DAY OF JANUARY 2007
7. BY: Bradley Abelow, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A280417
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Bradley Abelow

Raisbeck, Lara, Rodriguez & Rueda
Av. 82 No. 10 - 82 8th Floor
Bogotá, Colombia

NT: 800.068.840-3
Tel: +57 1 634 1500
Fax: +57 1 378 2211
www.bakernet.com

POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

WYETH

with offices at

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940,
United States of America

declares that it hereby grants to

**ALVARO CORREA-ORDÓÑEZ and/or
OLGA GEORGETTE OTERO and/or
RICARDO METKE and/or
JUAN PABLO CONCHA**

all members of the law firm Raisbeck, Lara, Rodriguez & Rueda, with domicile at Av. 82 No. 10 - 62, 6Th floor, of Bogotá D. C., Colombia, and for so long as they remain members of the law firm, a full and sufficient power of attorney with respect to Colombian patent application(s) based on PCT/US2005/031053 and entitled "PHENANTHRIDINE CARBONYL PHENOLS AS CYTOKINE MODULATORS"

and to obtain patent protection thereof, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following:
a) Obtainment of a patent(s) based upon said patent application(s), including filing of assignments, change of name or address, voluntary cancellation; and defending oppositions, cancellations, nullity, writ mandamus, and in general the civil, penal, an administrative processes relating to those rights.

I hereby ratify all lawful actions previously taken on behalf of this company by the aforementioned attorneys with respect to the mentioned matters.

Done and subscribed in

On the **10th** day of **January** of 2007

Signature of the person Issuing the Power

WYETH


William H. Calnan
Assistant Secretary

PODER DE ABOGADO

La abajo firmada,

WYETH

con oficinas en

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940,
Estados Unidos de América

declara por el presente que otorga a

**ALVARO CORREA-ORDÓÑEZ y/o
OLGA GEORGETTE OTERO y/o
RICARDO METKE y/o
JUAN PABLO CONCHA**

Todos miembros de la firma de abogados Raisbeck, Lara, Rodríguez & Rueda, con domicilio en la Av. 82 No. 10 - 62 Piso 6 en Bogotá D. C., Colombia, y hasta tanto ellos continúen siendo miembros de la firma, poder especial amplio y suficiente con respecto a la solicitud(es) de patente en Colombia basada(s) en **PCT/US2005/031053** y titulada

"
y para obtener la protección de patente de la misma, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera autoridades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de la(s) patente(s) de invención basada(s) en la mencionada solicitud de patente, incluyendo presentación de traspasos, cambio de nombre o dirección, cancelación voluntaria; y defensa en oposiciones, cancelaciones, nulidades, la tutela, y en general procesos civiles, penales, administrativos relacionados con estos derechos.

Igualmente, ratifico todo lo actuado en derecho hasta el momento en nombre de esta compañía por cualquiera de los mencionados apoderados en los casos mencionados.

Dado y firmado en

A los _____ días del mes de _____ de 2007

Firma de la persona que firma el Poder

STATE OF NEW JERSEY)
) SS:
COUNTY OF MORRIS)

On this 10th day of January 2007, before me personally appeared William H. Calnan, Assistant Secretary of Wyeth, to me known and known to me to be the individual described in and who executed the foregoing instrument, and he acknowledged to me that he executed the same.

Michelle L. McGowan
Notary Public

MICHELLE L. MCGOWAN
Notary Public, State of New Jersey
No. 2108903
Qualified in Morris County
Commission Expires Feb. 9, 2011

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
16 March 2006 (16.03.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/028875 A1

(51) International Patent Classification:

C07D 221/12 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
A61K 31/473 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) A61P 17/06 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2005/031053

(22) International Filing Date: 30 August 2005 (30.08.2005)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

60/606,784 2 September 2004 (02.09.2004) US

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH
[US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940-0874
(US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): STEFFAN, Robert,
John [US/US]; 263 Wheatshaf Lane, Langhorne, PA
19047 (US). MOORE, William, Jay [US/US]; 108 Fox
Run Drive, Collegeville, PA 19426 (US). TRYBULSKI,
Eugene, J. [US/US]; 3432 Manor Road, Huntingdon Val-
ley, PA 19006 (US). MOLINARI, Albert, John [US/US];
1053 Overlook Drive, Pottstown, PA 19464-2979 (US).

(74) Agents: LUCCL, Joseph et al.; Woodcock Washburn LLP,
One Liberty Place - 46th Floor, Philadelphia, PA 19103
(US).

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

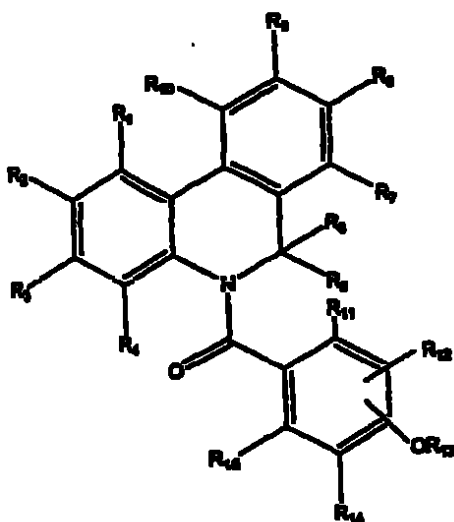
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT,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

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

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

(54) Title: PHENANTHRIDINE CARBONYL PHENOLS AS CYTOKINE MODULATORS



(1)

(57) Abstract: The present invention provides phenanthridine
carbonyl compounds and compositions, particularly those that
find use as ligands for the estrogen receptor. Representative
compounds of the invention include those of formula 1.

PHENANTHRIDINE CARBONYL PHENOLS AS CYTOKINE MODULATORS**CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS**

[0001] This application claims priority to provisional application serial number 60/606,784 filed on September 2, 2004 incorporated herein by reference in its entirety.

BACKGROUND

[0002] The present invention relates generally to phenanthridine carbonyl compounds such as substituted phenanthridine carbonyl phenols and methods of using them.

[0003] The ability of ligands for the estrogen receptor to inhibit inflammatory gene expression and cause a reduction of cytokines, chemokines, adhesion molecules and inflammatory enzymes is well known. A common component of chronic inflammatory conditions is polymorphonuclear leukocyte and monocyte infiltration into the site of damage through increased expression of cytokines and adhesion molecules responsible for their recruitment. Overproduction of the cytokine interleukin (IL-6) has been associated with states of chronic inflammation (Bauer M. A., Herrmann F., *Ann. Hematol.*, 1991, 62, 203). Synthesis of the IL-6 gene is believed to be induced by the transcription factor nuclear factor κ B (NF- κ B). Interference at this step in the inflammatory process can effectively regulate the uncontrolled proliferative process that occurs in these chronic conditions.

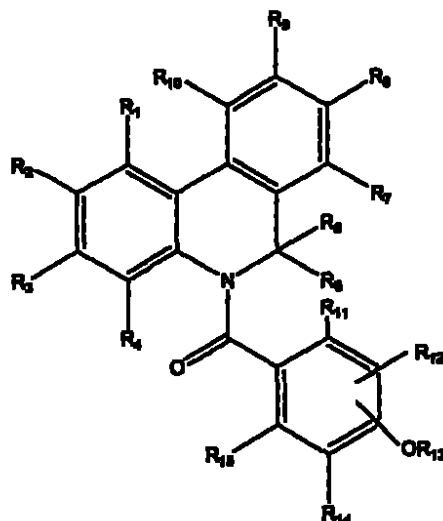
[0004] Activation of the estrogen receptor provides a means to treat the inflammatory component of diseases such as atherosclerosis, myocardial infarction (MI), congestive heart failure (CHF), inflammatory bowel disease and arthritis, in part by interfering with cytokine expression. Other therapeutic indications for these type of molecules include type II diabetes (Cefalu, *J Womens Health & Gender-based Med.* 2001, 10, 241; Yuan *et al.*, *Science*, 2001, 293, 1673), osteoarthritis (Pelletier *et al.*,

Arthr. & Rheum., 2001, 44:1237; Felson *et al.*, *Curr Opinion Rheum*, 1998, 10, 269) asthma (Chin-Chi Lin *et al.*, *Immunol. Lett.*, 2000, 73, 57), Alzheimer's disease (Roth, A. *et al.*, *J. Neurosci. Res.*, 1999, 57, 399) and autoimmune diseases such as multiple sclerosis and rheumatoid arthritis.

[0005] In view of the foregoing, there exists a need for the identification of ligands for the estrogen receptor and for methods of using the identified ligands to modulate the activity of the receptor and, preferably, treat disease.

SUMMARY

[0006] The present invention provides, *inter alia*, phenanthridine carbonyl compounds and compositions, particularly those that find use as ligands for the estrogen receptor, and methods of using them. Representative compounds of the invention include those of Formula 1:



Formula 1

wherein

R₁, R₂, R₃, and R₄, are, independently, hydrogen, lower alkyl, halogen, or aryl;

R₇, R₈, R₉, and R₁₀, are, independently, hydrogen, lower alkyl or halogen;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, and R₁₅ are, independently, hydrogen, hydroxy, lower alkyl, alkoxy, or halogen;

one of R₅ and R₆ is hydrogen and the other is lower alkyl;

R₁₃ is hydrogen, -(C=O)R₁₆, -S(O)₂R₁₇, -S(O)₂N(R₁₈)(R₁₉), or D-glucuronidate;

R₁₆ is alkyl, aralkyl or aryl;

R₁₇ is alkyl, aryl, heteroaryl, cycloalkyl, alkenyl, cycloalkenyl, or alkynyl;

R₁₈ and R₁₉ are, independently, hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, monofluoroalkyl, perfluoroalkyl, aryl, arylalkyl, cycloalkenyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, hydroxy-(C₂-C₆)alkyl, alkoxyalkyl, alkylthioalkyl, carbonyl, acyl, alkoxycarbonyl, -C(O)NH₂, alkylaminocarbonyl, dialkylaminocarbonyl, alkylaminoalkyl, or dialkylaminoalkyl;

or R₁₈ and R₁₉ are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated, unsaturated or partially saturated C₄-C₆ carbon ring.

[0007] In some compounds of the present invention,

R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀, are, independently, hydrogen, lower alkyl or halogen;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, and R₁₅ are, independently, hydrogen, hydroxy, lower alkyl, alkoxy, or halogen;

one of R₅ and R₆ is hydrogen and the other is lower alkyl;

R₁₃ is hydrogen, -(C=O)R₁₆, -S(O)₂R₁₇, -S(O)₂N(R₁₈)(R₁₉), or D-glucuronidate;

R₁₆ is alkyl, aralkyl or aryl;

R₁₇ is alkyl, aryl, heteroaryl, cycloalkyl, alkenyl, cycloalkenyl, or alkynyl;

R₁₈ and R₁₉ are, independently, hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, monofluoroalkyl, perfluoroalkyl, aryl, arylalkyl, cycloalkenyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, hydroxy-(C₂-C₆)alkyl, alkoxyalkyl, alkylthioalkyl, carbonyl, acyl, alkoxycarbonyl, -C(O)NH₂, alkylaminocarbonyl, dialkylaminocarbonyl, alkylaminoalkyl, or dialkylaminoalkyl

or R₁₈ and R₁₉ are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated, unsaturated or partially saturated C₄-C₆ carbon ring.

[0008] The present invention also provides, *inter alia*, prodrugs, enantiomers, hydrates, solvates, or pharmaceutically acceptable salts or esters of Formula 1.

[0009] Methods of using the compounds of the present invention are also provided. For example, exemplary compounds can be used to modulate cytokine expression in a cell. In some embodiments, an effective amount of one or more compounds of the present invention can be provided to a subject to inhibit cytokine

expression in the subject. In one aspect, the cytokine is interleukin, *e.g.* IL-6. In some embodiments, the subject suffers from chronic inflammatory disease. In some embodiments, the subject suffers from atherosclerosis, myocardial infarction, congestive heart failure, inflammatory bowel disease, or arthritis.

[0010] The present invention also provides, *inter alia*, methods of treating a condition or disease characterized by increased cytokine expression or activity. Such methods comprise providing to a subject a pharmaceutically effective amount of a compound of the present invention. In one aspect, the disease is a chronic inflammatory disease. In some embodiments, the compound is useful in treating the inflammatory component of a disease such as atherosclerosis, myocardial infarction, congestive heart failure, inflammatory bowel disease, or arthritis.

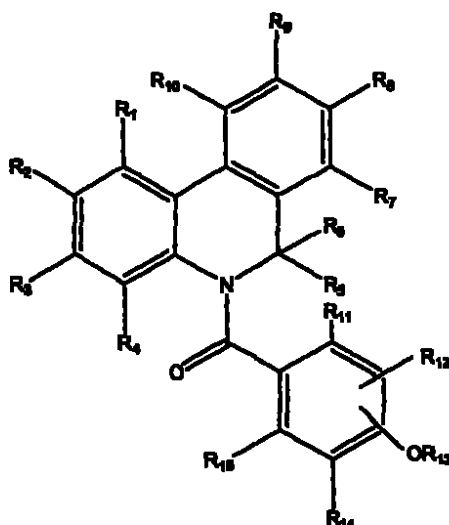
[0011] The present invention also provides, *inter alia*, methods of determining the activity of a compound of the present invention. The method can include the step of contacting a compound of the present invention with a cell and measuring cytokine expression in the cell, *e.g.*, by Western or Northern Blot. In some embodiments, the cell will be one that overexpresses cytokines. The step of measuring cytokine expression in the cell can occur before or after the contacting step. In one aspect, the cytokine is interleukin, *e.g.*, IL-6.

[0012] The present invention also provides, *inter alia*, kits for inhibiting cytokine expression and/or for treating chronic inflammatory disease in a subject comprising a container, a pharmaceutical composition contained therein comprising a compound of the present invention, and a package insert indicating that the pharmaceutical composition can be used for the inhibition of cytokine expression and/or for the treatment of chronic inflammatory disease.

DETAILED DESCRIPTION

[0013] The present invention provides substituted phenanthridine carbonyl phenols and substituted phenanthridine carbonyl phenol derivatives, processes for preparing such compounds, pharmaceutical compositions comprising such compounds, and methods for using such compounds. Preferred compounds have properties that are useful for the treatment, including the prevention and inhibition, of a wide variety of diseases and disorders affected by the estrogen receptor.

[0014] Compounds of the present invention include those of Formula 1:



Formula 1

wherein

R₁, R₂, R₃, and R₄, are, independently, hydrogen, lower alkyl, halogen, or aryl;

R₇, R₈, R₉, and R₁₀, are, independently, hydrogen, lower alkyl or halogen;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, and R₁₅ are, independently, hydrogen, hydroxy, lower alkyl, alkoxy,

or halogen;

one of R₅ and R₆ is hydrogen and the other is lower alkyl;

R₁₃ is hydrogen, -(C=O)R₁₆, -S(O)₂R₁₇, -S(O)₂N(R₁₈)(R₁₉), or D-glucuronidate;

R₁₆ is alkyl, aralkyl or aryl;

R₁₇ is alkyl, aryl, heteroaryl, cycloalkyl, alkenyl, cycloalkenyl, or alkynyl;

R₁₈ and R₁₉ are, independently, hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, monofluoroalkyl, perfluoroalkyl, aryl, arylalkyl, cycloalkenyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, hydroxy-(C₂-C₆)alkyl, alkoxyalkyl, alkylthioalkyl, carbonyl, acyl, alkoxycarbonyl, -C(O)NH₂, alkylaminocarbonyl, dialkylaminocarbonyl, alkylaminoalkyl, or dialkylaminoalkyl;

or R₁₈ and R₁₉ are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated, unsaturated or partially saturated C₄-C₆ carbon ring.

[0015] In some compounds of the present invention,

R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀, are, independently, hydrogen, lower alkyl or halogen;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, and R₁₅ are, independently, hydrogen, hydroxy, lower alkyl, alkoxy, or halogen;

one of R₅ and R₆ is hydrogen and the other is lower alkyl;

R₁₃ is hydrogen, -(C=O)R₁₆, -S(O)₂R₁₇, -S(O)₂N(R₁₈)(R₁₉), or D-glucuronidate;

R₁₆ is alkyl, aralkyl or aryl;

R₁₇ is alkyl, aryl, heteroaryl, cycloalkyl, alkenyl, cycloalkenyl, or alkynyl;

R₁₈ and R₁₉ are, independently, hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, monofluoroalkyl, perfluoroalkyl, aryl, arylalkyl, cycloalkenyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, hydroxy-(C₂-C₆)alkyl, alkoxyalkyl, alkylthioalkyl, carbonyl, acyl, alkoxycarbonyl, -C(O)NH₂, alkylaminocarbonyl, dialkylaminocarbonyl, alkylaminoalkyl, or dialkylaminoalkyl

or R₁₈ and R₁₉ are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated, unsaturated or partially saturated C₄-C₆ carbon ring.

[0016] In some compounds of the present invention

R₁, R₂, R₃, and R₄ are, independently, hydrogen, C₁₋₆ alkyl, halogen, or C₆₋₁₄ aryl;

R₇, R₈, R₉, and R₁₀ are, independently, hydrogen, C₁₋₆ alkyl or halogen;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, and R₁₅ are, independently, hydrogen, hydroxy, C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ alkoxy, or halogen;

one of R₅ and R₆ is hydrogen and the other is C₁₋₆ alkyl;

R₁₃ is hydrogen, -(C=O)R₁₆, -S(O)₂R₁₇, -S(O)₂N(R₁₈)(R₁₉), or D-glucuronidate;

R₁₆ is C₁₋₆ alkyl, C₆₋₁₄ ar(C₁₋₆)alkyl or C₆₋₁₄ aryl;

R₁₇ is C₁₋₆ alkyl, C₆₋₁₄ aryl, heteroaryl, C₁₋₆ cycloalkyl, C₂₋₁₅ alkenyl, C₄₋₁₅ cycloalkenyl, or C₂₋₁₅ alkynyl,

R₁₈ and R₁₉ are, independently, hydrogen, C₁₋₆ alkyl, C₂₋₁₅ alkenyl, C₂₋₁₅ alkynyl, C₃₋₁₅ cycloalkyl, monofluoro(C₁₋₁₀)alkyl, perfluoro(C₁₋₆)alkyl, C₆₋₁₄ aryl, C₆₋₁₄ aryl(C₁₋₆)alkyl, C₂₋₁₅ cycloalkenyl, heteroaryl, heteroaryl(C₁₋₆)alkyl, hydroxy-(C₂-C₆)alkyl, C₁₋₆ alkoxy(C₁₋₆)alkyl, C₁₋₆ alkylthio(C₁₋₆)alkyl, carbonyl, acyl, C₁₋₆ alkoxycarbonyl, -C(O)NH₂, C₁₋₆ alkylaminocarbonyl, di(C₁₋₆)alkylaminocarbonyl, C₁₋₆ alkylamino(C₁₋₆)alkyl, or di(C₁₋₆)alkylamino(C₁₋₆)alkyl

or R₁₈ and R₁₉ are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated, unsaturated or partially saturated C₄-C₆ carbon ring.

[0017] Compounds of the present invention also include prodrugs, enantiomers, diastereomers, racemates, geometric isomers, hydrates, solvates, or pharmaceutically acceptable salts or esters of Formula 1.

[0018] Exemplary compounds of Formula 1 include those wherein at least one of R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀, is halogen. For example, in one exemplary embodiment, R₃ or R₈ is halogen. In another exemplary embodiment, both R₃ and R₈ are halogen. In another exemplary embodiment, R₃ or R₈ is chlorine or fluorine or R₃ and R₈ are chlorine or fluorine. Exemplary embodiments of compounds of Formula 1 include those wherein R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀ are hydrogen or halogen.

[0019] Exemplary compounds of Formula 1 include those wherein R₁₂, R₁₄ and R₁₅ are hydrogen, halogen, hydroxy, or alkoxy. For example in some embodiments, R₁₂, R₁₄ and R₁₅ are hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or methoxy.

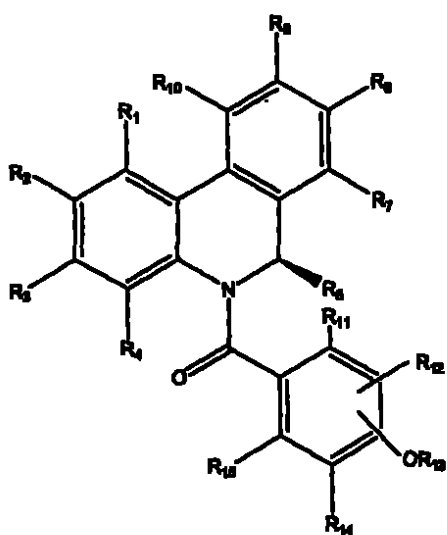
[0020] Exemplary compounds of Formula 1 include those wherein R₁₃ is hydrogen.

[0021] Exemplary embodiments of Formula 1 include those wherein at least one of R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀, is halogen, R₁₂, R₁₄ and R₁₅ are hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or alkoxy (*e.g.*, methoxy) and R₁₃ is hydrogen.

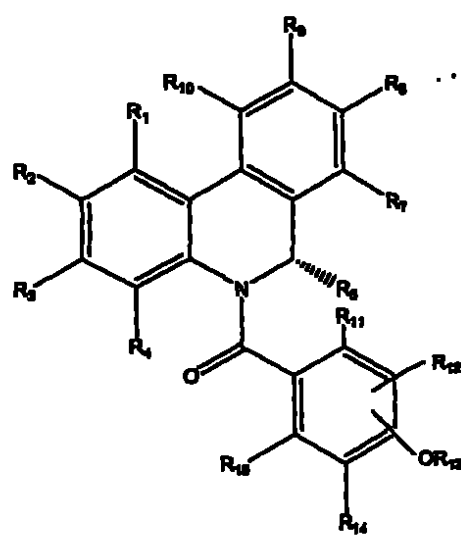
[0022] Further exemplary embodiments of Formula 1 include those wherein at least one of R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀, is halogen and the others are hydrogen. Further embodiments include those where at least one of R₁₂, R₁₄ and R₁₅ is hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or alkoxy (*e.g.*, methoxy) and the others are hydrogen. For both of these embodiments R₁₃ is preferably hydrogen.

[0023] Representative compounds of the present invention include compounds of formulas 2 to 12:

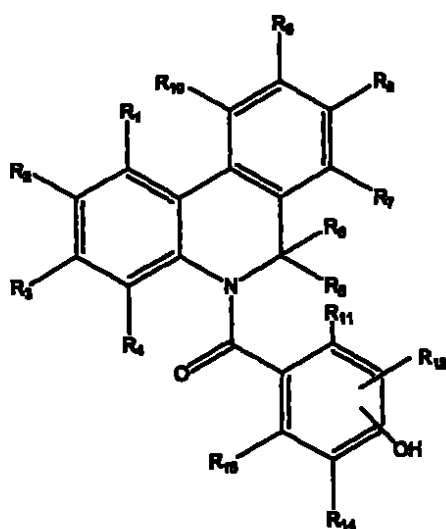
20



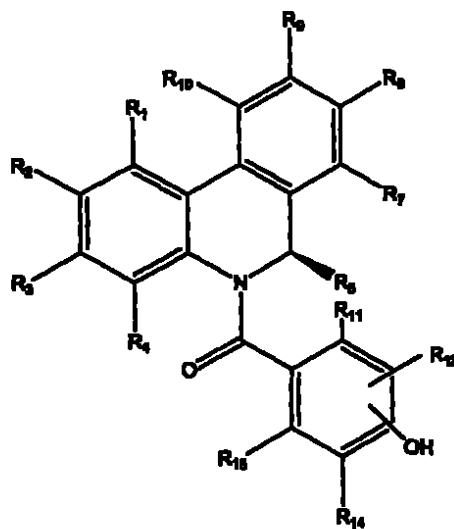
Formula 2



Formula 3



Formula 4

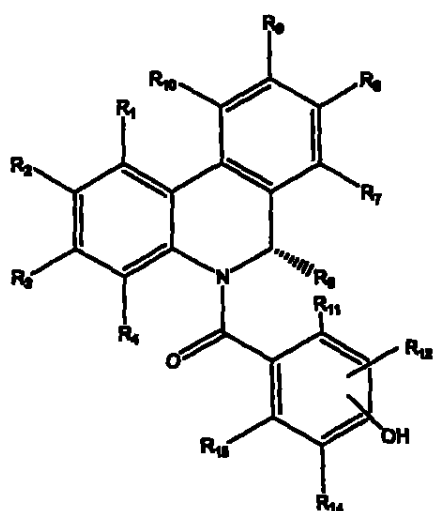


Formula 5

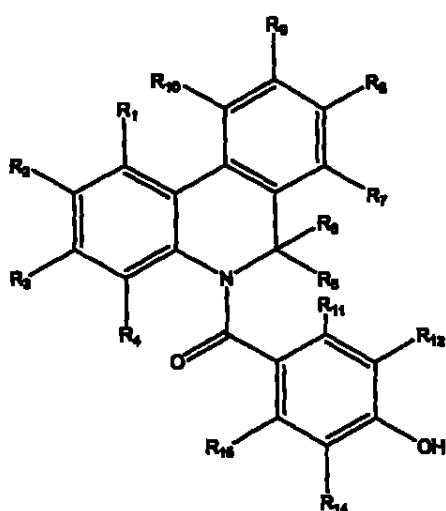
1)

21

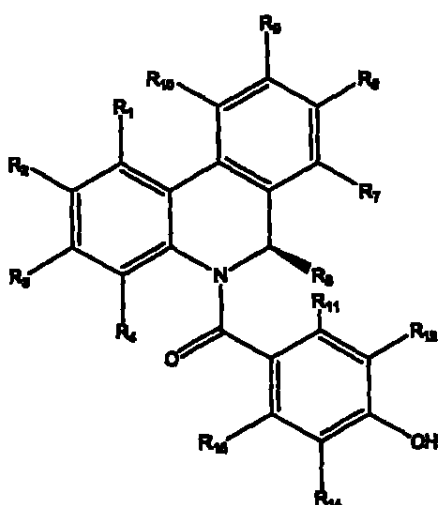
0 012



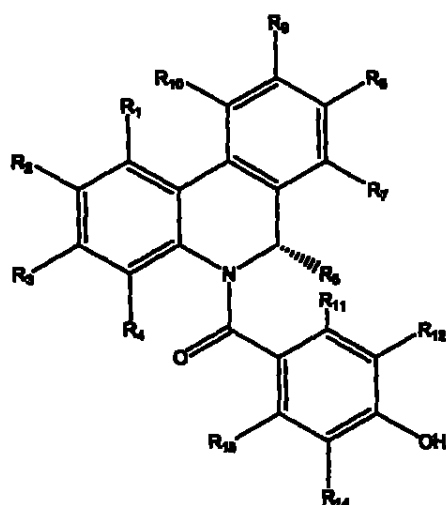
Formula 6



Formula 7

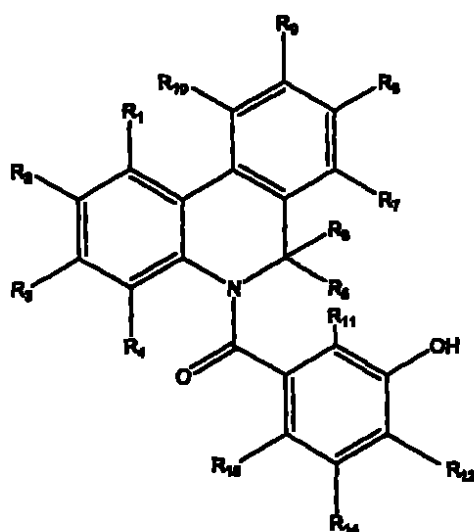


Formula 8

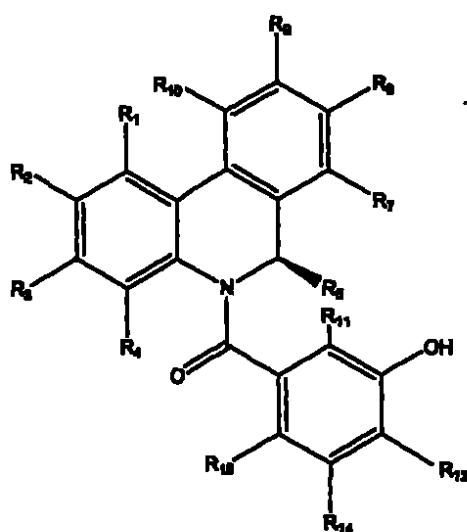


Formula 9

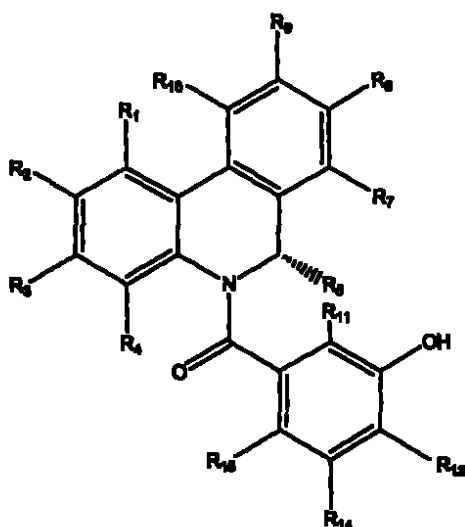
22



Formula 10



Formula 11



Formula 12

wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{14} , and R_{15} are as defined herein for Formula 1.

[0024] The present invention also provides, *inter alia*, prodrugs, enantiomers, diastereomers, racemates, geometric isomers, hydrates, solvates, or pharmaceutically acceptable salts or esters of compounds of Formulas 2 to 12.

[0025] Compounds of Formulas 2 to 12 include those wherein at least one of R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , and R_{10} , is halogen. For example, in one exemplary embodiment, R_3 or R_8 is halogen. In another exemplary embodiment, both R_3 or R_8 are halogen. In another exemplary embodiment, R_3 or R_8 is chlorine or fluorine or R_3 and R_8 are chlorine

or fluorine. Exemplary compounds of Formulas 2 to 12 include those wherein at $R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9,$ and R_{10} are hydrogen or halogen. 021

[0026] Exemplary compounds of Formulas 2 to 12 include those wherein R_{12}, R_{14} and R_{15} are hydrogen, halogen, hydroxy, or alkoxy. For example in some embodiments, R_{12}, R_{14} and R_{15} are hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or methoxy.

[0027] Exemplary embodiments of Formulas 2 to 12 include those wherein at least one of $R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9,$ and R_{10} , is halogen and R_{12}, R_{14} and R_{15} are hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or methoxy.

[0028] Exemplary substituted 6-substituted-phenanthridin-5(6H)-ylcarbonylphenyl derivatives of the present invention include, but are not limited to, 4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-fluoro-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-fluoro-4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-fluoro-3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-fluoro-3-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-fluoro-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-fluoro-4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-chloro-5-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-chloro-5-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-bromo-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-bromo-4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-bromo-3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-bromo-3-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]-2-methoxyphenol; 4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]-2-methoxyphenol; 4-[[[(6S)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-

1,3-diol; 4-[(6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl) carbonyl]-3-fluorophenol; 3-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 3-[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 4-[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol;

4-[3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 3-[(6R)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[(6S)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 4-[(6R)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(6S)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[(6R)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[(6S)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[(3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 4-[(6R)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(6S)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol and pharmaceutically acceptable salt and ester forms thereof.

[0029] As used herein alone or as part of a group, the term "alkyl" includes both branched and straight-chain saturated aliphatic hydrocarbon groups having the specified number of carbon atoms, e.g. methyl (Me), ethyl (Et), propyl (Pr), isopropyl (i-Pr), isobutyl (i-Bu), secbutyl (s-Bu), tertbutyl (t-Bu), isopentyl, isohexyl and the like. The term "alkyl" further includes both unsubstituted and mono-, di- and tri-substituted hydrocarbon groups, suitable substituents are selected from acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of

75
023

from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, trihalomethyl, aryl, and heteroaryl, with halogen substitution particularly preferred. Preferred alkyl groups have from 1 to 12 carbon atoms, more preferably from 1 to 6 carbon atoms unless otherwise defined. A lower alkyl has from 1 to 6 carbon atoms.

[0030] The carbon number as used in the definitions herein refers to carbon backbone and carbon branching, but does not include carbon atoms of the substituents, such as alkoxy substitutions and the like.

[0031] The term "alkenyl" as used herein alone or as part of a group refers to an unsaturated or partially unsaturated aliphatic hydrocarbon group having the specified number of carbon atoms, for example ethenyl, 1-propenyl, 2, butenyl, etc. The term "alkenyl" further includes both unsubstituted and mono-, di- and tri-substituted hydrocarbon groups, suitable substituents are selected from acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, trihalomethyl, aryl, and heteroaryl, with halogen substitution particularly preferred. Preferred alkenyl groups have from 1 to 12 carbon atoms.

[0032] The term "alkynyl", as used herein alone or as part of a group refers to a substituted or unsubstituted aliphatic hydrocarbon chain and includes, but is not limited to, straight and branched chains and containing at least one triple bond. Preferably, the alkynyl moiety has 2 to 10 carbon atoms. In certain embodiments, the alkynyl can contain more than one triple bond and, in such cases, the alkynyl group must contain at least three carbon atoms. Specifically included within the definition of "alkynyl" are those aliphatic hydrocarbon chains that are optionally substituted. Suitable substituents are selected from acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy

0 024
20

of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, trihalomethyl, aryl, and heteroaryl.

[0033] The term "perfluoroalkyl", as used herein, whether used alone or as part of another group, refers to an alkyl group substituted with two or more fluorine atoms and includes, but is not limited to, straight or branched chains, such as $-\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$ and $-\text{CH}(\text{CF}_3)_2$.

[0034] The term "carbonyl" as used herein alone or as part of a group refers to the group $-\text{C}(=\text{O})$.

[0035] The term "acyl", employed alone or in combination with other terms, is defined herein as, unless otherwise stated, either an arylalkyl, heteroarylalkyl, $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ straight chain, or $(\text{C}_4\text{-C}_{11})$ branched-chain monovalent hydrocarbon moiety; wherein the carbon atom, covalently linked to the defined chemical structure, is oxidized to the carbonyl oxidation state. Such hydrocarbon moieties may be mono or polyunsaturated, and may exist in the E or Z configurations. The compounds of this invention are meant to include all possible E and Z configurations. Examples of acyl moieties include, but are not limited to, chemical groups such as acetyl, propionyl, butyryl, 3,3-dimethylbutyryl, trifluoroacetyl, pivaloyl, hexanoyl, hexenoyl, decanoyl, benzoyl, nicotiny, isonicotiny, and homologs, isomers, and the like.

[0036] The term "alkylamino" as used herein alone or as part of a group refers to the group $-\text{NH-alkyl}$

[0037] The term "alkylaminocarbonyl" as used herein alone or as part of a group refers to an alkylamino group bonded through a carbonyl group.

[0038] The term "dialkylamino" herein alone or as part of a group refers to the group $-\text{N}(\text{alkyl})_2$, where the alkyl group is the same or different.

[0039] The term "dialkylaminocarbonyl" as used herein alone or as part of a group refers to a dialkylamino group bonded through a carbonyl group.

[0040] The term "alkylaminocarbonyl" as used herein alone or as part of a group refers to an alkylamino group bonded through a carbonyl group.

[0041] The term "alkoxy" as used herein alone or as part of a group refers to the group $\text{R}_a\text{-O-}$ wherein R_a is an alkyl group as defined above.

[0042] The term "alkoxycarbonyl" as used herein alone or as part of a group refers to an alkoxy group bonded through a carbonyl group.

[0043] The term "cycloalkyl" includes cyclized alkyl chains having the specified number of carbon atoms, e.g., cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and cyclohexyl.

[0044] The term "cycloalkenyl" includes cyclized alkyl chains containing an alkenyl group having the specified number of carbon atoms, e.g., cyclopentenyl, cyclohexenyl, and the like. Specifically included within the definition of cycloalkyl and cycloalkenyl are those cycloalkyl groups that are optionally substituted. Suitable substituents are selected from acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, trihalomethyl, aryl, and heteroaryl. Preferred cycloalkyl and cycloalkenyl groups contain from 3 to 15 carbon atoms.

[0045] The term "halogen" includes fluorine, chlorine, iodine, and bromine.

[0046] The term "aryl" refers to an aromatic carbocyclic moiety of up to 20 carbon atoms, which can be a single ring (monocyclic) or multiple rings (bicyclic, up to three rings) fused together or linked covalently. Any suitable ring position of the aryl moiety can be covalently linked to the defined chemical structure. Examples of aryl moieties include, but are not limited to, chemical groups such as phenyl, 1-naphthyl, 2-naphthyl, dihydronaphthyl, tetrahydronaphthyl, biphenyl, anthryl, phenanthryl, fluorenyl, indanyl, biphenylenyl, acenaphthenyl, acenaphthylenyl, and the like. Specifically included with the term "aryl" are those aryl groups that are optionally substituted. Suitable substituents are selected from acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, trihalomethyl, aryl, and heteroaryl. Preferred aryl groups contain from 6 to 14 carbon atoms.

[0047] The term "arylalkyl", as used herein, whether used alone or as part of another group, refers to the group -R_a-R_b, where R_a is an alkyl group as defined above, substituted by R_b, an aryl group, as defined above. In a preferred embodiment, the alkyl chain is either a (C₁-C₆) straight or (C₂-C₇) branched-chain saturated hydrocarbon moiety. Examples of arylalkyl moieties include, but are not limited to, chemical groups such as benzyl, 1-phenylethyl, 2-phenylethyl, diphenylmethyl, 3-phenylpropyl, 2-phenylpropyl, fluorenylmethyl, and homologs, isomers, and the like. These may be optionally substituted as discussed for the aryl and alkyl groups defined above.

[0048] The term "heterocyclic ring or ring system", employed alone or in combination with other terms, is defined herein as an unsaturated, partially unsaturated or saturated ring or ring system, which can be a single ring (monocyclic) or multiple rings (bicyclic, up to three rings) fused together or linked covalently. The rings can contain from one to four hetero atoms selected from nitrogen (N), oxygen (O), or sulfur (S), wherein the nitrogen or sulfur atom(s) are optionally oxidized, or the nitrogen atom(s) are optionally quarternized. Any suitable ring position of the heteroaryl moiety can be covalently linked to the defined chemical structure. Examples of unsaturated heterocyclic rings or ring systems include, but are not limited to, heterocycles such as furan, thiophene, pyrrole, N-methylpyrrole, pyrazole, N-methylpyrazole, imidazole, N-methylimidazole, oxazole, isoxazole, thiazole, isothiazole, 1H-tetrazole, 1-methyltetrazole, 1,3,4-oxadiazole, 1H-1,2,4-triazole, 1-methyl-1,2,4-triazole, 1,3,4-triazole, 1-methyl-1,3,4-triazole, pyridine, pyrimidine, pyrazine, pyridazine, benzoxazole, benzisoxazole, benzothiazole, benzofuran, benzothiophene, thianthrene, dibenzo[b,d]furan, dibenzo[b,d]thiophene, benzimidazole, N-methylbenzimidazole, indole, indazole, quinoline, isoquinoline, quinazoline, quinoxaline, purine, pteridine, 9H-carbazole, β -carboline, and the like. Examples of saturated or partially unsaturated heterocyclic rings or ring systems include, but are not limited to, chemical groups such as azetidiny, 1,4-dioxanyl, hexahydroazepiny, piperaziny, piperidiny, pyrrolidiny, morpholiny, thiomorpholiny, dihydrobenzimidazolyl, dihydrobenzofuranyl, dihydrobenzothiényl, dihydrobenzoxazolyl, dihydrofuranyl, dihydroimidazolyl, dihydroindolyl, dihydroisooxazolyl, dihydroisothiazolyl, dihydrooxadiazolyl, dihydrooxazolyl, dihydropyrazinyl, dihydropyrazolyl, dihydropyridinyl,

dihydropyrimidinyl, dihydropyrrolyl, dihydroquinolinyl, dihydrotetrazolyl, dihydrothiadiazolyl, dihydrothiazolyl, dihydrothienyl, dihydrotriazolyl, dihydroazetidiny, dihydro-1,4-dioxanyl, tetrahydrofuranyl, tetrahydrothienyl, tetrahydroquinolinyl, tetrahydroisoquinolinyl, and the like. Specifically included within the term "heterocycle" are those heterocyclic groups that are optionally substituted. Suitable substituents are selected from acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, and trihalomethyl.

[0049] As used herein, the term "heteroaryl", whether used alone or as part of another group, is defined as a substituted or unsubstituted aromatic heterocyclic ring system (monocyclic or bicyclic). Heteroaryl groups can have, for example, from about 3 to about 50 carbon atoms (unless explicitly specified otherwise) with from about 4 to about 10 being preferred. In some embodiments, heteroaryl groups are aromatic heterocyclic rings systems having about 4 to about 14 ring atoms and containing carbon atoms and 1, 2, 3, or 4 heteroatoms selected from oxygen, nitrogen or sulfur. Representative heteroaryl groups are furan, thiophene, indole, azaindole, oxazole, thiazole, isoxazole, isothiazole, imidazole, N-methylimidazole, pyridine, pyrimidine, pyrazine, pyrrole, N-methylpyrrole, pyrazole, N-methylpyrazole, 1,3,4-oxadiazole, 1,2,4-triazole, 1-methyl-1,2,4-triazole, 1H-tetrazole, 1-methyltetrazole, benzoxazole, benzothiazole, benzofuran, benzisoxazole, benzimidazole, N-methylbenzimidazole, azabenzimidazole, indazole, quinazoline, quinoline, and isoquinoline. Bicyclic aromatic heteroaryl groups include phenyl, pyridine, pyrimidine or pyridazine rings that are (a) fused to a 6-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having one nitrogen atom; (b) fused to a 5- or 6-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having two nitrogen atoms; (c) fused to a 5-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having one nitrogen atom together with either one oxygen or one sulfur atom; or (d) fused to a 5-membered aromatic (unsaturated) heterocyclic ring having one heteroatom selected from O, N or S. Specifically included within the definition of "heteroaryl" are

those aromatic heterocyclic rings that are substituted, for example with 1 to 5 substituents selected from the group consisting of acyloxy, hydroxy, acyl, alkyl of 1 to 6 carbon atoms, alkoxy of 1 to 6 carbon atoms, alkenyl of 2 to 6 carbon atoms, alkynyl of 2 to 6 carbon atoms, amino, amino substituted by one or two alkyl groups of from 1 to 6 carbon atoms, aminoacyl, acylamino, azido, cyano, halo, nitro, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms, thioalkoxy of from 1 to 6 carbon atoms mono- or di-substituted with lower alkyl or alkoxy, and trihalomethyl. Where there is more than one substituent the substituents may be the same or different.

[0050] The compounds of the present invention can be converted to salts, in particular pharmaceutically acceptable salts using art recognized procedures. The compounds of formulas 1 to 12 that have a basic center can form acid addition salts. These are formed, for example, with strong inorganic acids, such as mineral acids for example sulfuric acid, phosphoric acid or a hydrohalic acid, with strong organic carboxylic acids, such as alkanecarboxylic acids of 1 to 4 carbon atoms which are unsubstituted or substituted, for example, by halogen, for example acetic acid such as saturated or unsaturated dicarboxylic acids, for example oxalic, malonic, succinic, maleic, fumaric, phthalic, or terephthalic acid, such as hydroxycarboxylic acids, for example ascorbic, glycolic, lactic, malic, tartaric or citric acid, such as amino acids, for example aspartic or glutamic acid, or such as benzoic acid, or with organic sulfonic acids, such as alkane- (of 1 to 4 carbon atoms) or arylsulfonic acids, for example methane- or p-toluenesulfonic acid. Corresponding acid addition salts can also be formed having, if desired, an additionally present basic center. The compounds of formulas 1 to 12 having at least one acid group can form salts with bases. Suitable salts with bases are, for example, metal salts, such as alkali metal or alkaline earth metal salts, for example sodium, potassium or magnesium salts, or salts with ammonia or an organic amine, such as morpholine, thiomorpholine, piperidine, pyrrolidine, a mono-, di- or tri-lower alkylamine, for example ethyl-tert-butyl-, diethyl-, diisopropyl-, triethyl-, tributyl- or dimethylpropylamine, or a mono-, di-, or trihydroxy lower alkylamine, for example mono-, di- or triethanolamine. Internal salts can furthermore be formed. Salts which are unsuitable for pharmaceutical uses but which can be employed, for example, for the

isolation or purification of free compounds of formulas 1 to 12 or their pharmaceutically acceptable salts, are also included.

[0051] Pharmaceutically acceptable esters refers to esters that are pharmaceutically acceptable and have the desired pharmacological properties.

Pharmaceutically acceptable esters include esters formed from carboxy, sulfonyloxy, and phosphonoxy groups present in the compounds, e.g. C₁₋₆ alkyl esters. When there are two acidic groups present, a pharmaceutically acceptable ester can be a mono-acid-mono-ester or a di-ester; and similarly where there are more than two acidic groups present, some or all of such groups can be esterified.

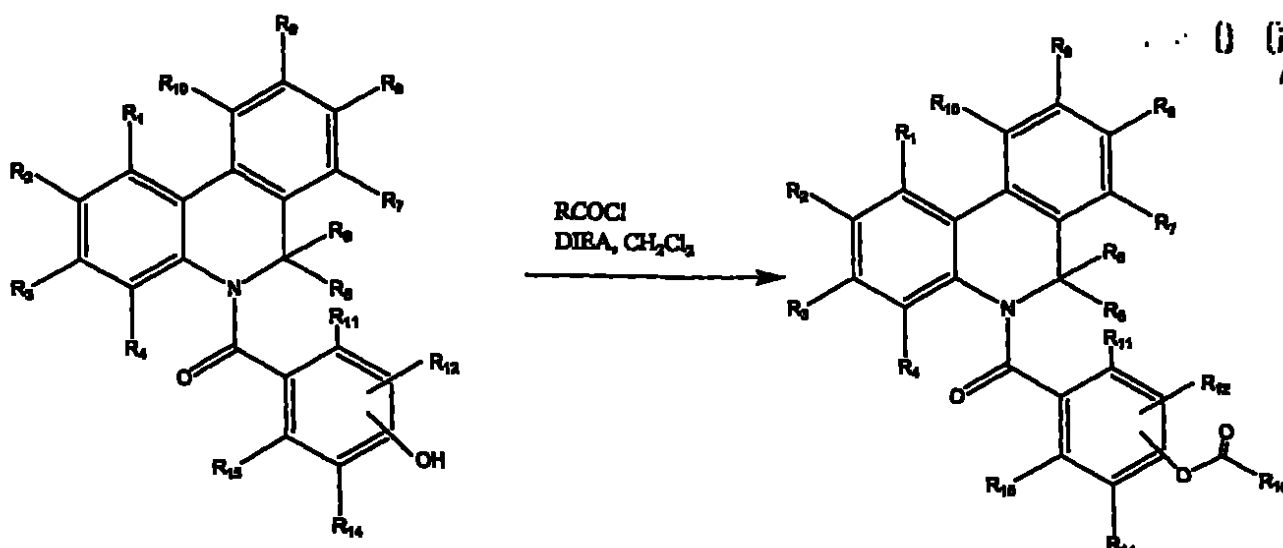
[0052] As used in accordance with this invention, the term "providing," with respect to providing a compound or substance covered by this invention, means either directly administering such a compound or substance, or administering a prodrug, derivative, or analog which will form the effective amount of the compound or substance within the body.

[0053] - Certain of the compounds of Formulas 1 to 12 contain stereogenic carbon atoms or other chiral elements and thus give rise to stereoisomers, including enantiomers and diastereomers. All stereoisomers of the compounds of the instant invention are contemplated, either in admixture or in pure or substantially pure form. The definition of the compounds according to the invention embraces all possible stereoisomers and their mixtures. Throughout this application, the name of the product, where the absolute configuration of an asymmetric center is not indicated is intended to embrace the individual stereoisomers as well as mixtures of stereoisomers.

[0054] Where an enantiomer (or a particular blend of enantiomers) is preferred, it can, in some embodiments, be provided substantially free of the corresponding enantiomer(s). Thus, an enantiomer substantially free of the corresponding enantiomer refers to a compound that is isolated or separated via separation techniques or prepared free of the corresponding enantiomer. "Substantially free," as used herein, means that the compound is made up of a significantly greater proportion of one enantiomer. In preferred embodiments, the compound is made up of at least about 90% by weight of a preferred enantiomer. In other embodiments of the invention, the compound is made up of at least about 99% by weight of a preferred enantiomer. Preferred enantiomers can be

isolated from racemic mixtures by any method known to those skilled in the art, including high performance liquid chromatography (HPLC) and the formation and crystallization of chiral salts, or preferred enantiomers can be prepared by methods described herein. The racemic forms can be resolved by physical methods, such as, for example, fractional crystallization, separation or crystallization of diastereomeric derivatives or separation by chiral column chromatography. The individual optical isomers can be obtained from the racemates by conventional methods, such as, for example, salt formation with an optically active acid followed by crystallization. Methods for the preparation of preferred enantiomers are described, for example, in Jacques, *et al.*, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S.H., *et al.*, *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E.L. *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); and Wilen, S.H. *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972), each of which is incorporated herein by reference in its entirety and for all purposes. Accordingly, the present invention embraces the racemic forms of the claimed compounds and the isolated optical isomers having the specified activity.

[0055] It should be understood that the present invention includes prodrug forms of the compounds of Formulas 1 to 12. Various forms of prodrugs are well known in the art. For examples of such prodrug derivatives, see: (a) *Design of Prodrugs*, edited by H. Bundgaard (Elsevier, 1985); and *Methods in Enzymology*, Vol. 42, pp. 309-396, edited by K. Widder et al., (Academic Press, 1985); (b) *A Textbook of Drug Design and Development*, edited by Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," by H. Bundgaard, pp. 113-191 (1991); (c) H. Bundgaard, *Advanced Drug Deliver Reviews*, 8, pp. 1-38 (1992); (d) H. Bundgaard et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 285 (1988); and (e) N. Kayeka et al., *Chem. Phar. Bull.*, 32, 692 (1984), each of which is incorporated herein by reference in its entirety and for all purposes. For example, a representative scheme for synthesizing an exemplary prodrug of the present invention is as follows:



[0056] Solvates (e.g., hydrates) are also within the scope of the present invention. Methods of solvation are generally known in the art. Accordingly, the compounds of the instant invention can be in the free or hydrate form, and can be obtained by methods exemplified by the following schemes below.

[0057] Compounds of the present invention can be prepared by those skilled in the art of organic synthesis employing conventional methods that utilize readily available reagents and starting materials. The compounds of the present invention can be prepared from commercially available starting materials, compounds known in the literature, or readily prepared intermediates, by employing standard synthetic methods and procedures known to those skilled in the art. Standard synthetic methods and procedures for the preparation of organic molecules and functional group transformations and manipulations can be readily obtained from the relevant scientific literature or from standard textbooks in the field. Although not limited to any one or several sources, classic texts such as Smith, M. B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001; and Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed.; John Wiley & Sons: New York, 1999 are useful and recognized reference textbooks of organic synthesis known to those in the art. The following synthetic schemes are designed to illustrate, but not limit, general procedures for the preparation of representative compounds of the present

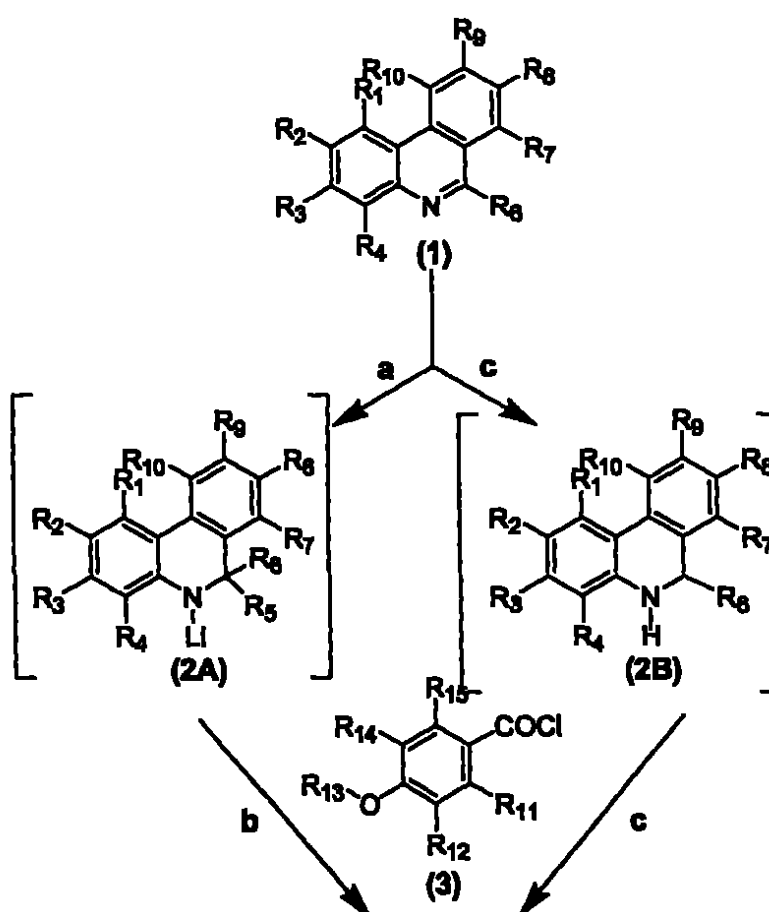
invention. The skilled practitioner will know how to make use of variants of these process steps.

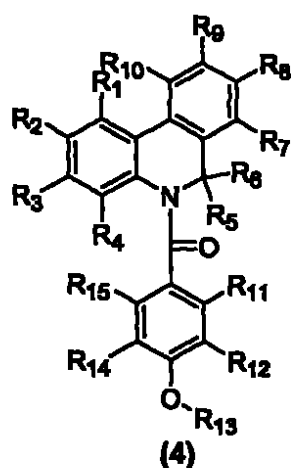
[0058] In scheme I the compounds can be conveniently prepared from an appropriately substituted phenanthridine. A general preparation of the phenanthridines is described by M. Lysen, J. L. Kristensen, M. Begtrup; *Organic Letters*, 2002, 4, 257. Several other methods of preparation of substituted phenanthridines are known in the literature (see P K. Patra, J. R. Suresh, H. Ila, H. Junjappa, *Tetrahedron*, 1998, 54, 10167). In scheme I, step a, a suitably substituted phenanthridine (1), either commercially available, known in the literature, or prepared according to methods known and established for the preparation of said phenanthridines, including the schemes described below; wherein, R_1 through R_{15} are herein before defined, is reacted with an R_5 -Li reagent, either commercially available, known in the literature, or prepared according to methods known and established for the formation of lithium reagents, in a suitable solvent, such as diethyl ether, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, or the like, at temperatures between -78°C and room temperature. The lithium amide salt (2A) is reacted *in situ* with a suitably substituted benzoyl chloride (3), either commercially available, known in the literature, or prepared according to methods known and established for the preparation of said benzoyl chlorides. Alternatively, the suitably substituted phenanthridine is reduced *in situ* to the intermediate dihydrophenanthridine (2B) in the presence of a suitable benzoyl chloride (3), as previously described, in a non-reactive solvent, such as diethyl ether, tetrahydrofuran, and the like, at temperatures between -78°C and room temperature to provide the protected phenol (4). A methyl ether (4); wherein, R_{13} is a methyl group, can be de-methylated in step d to the corresponding phenol (5) by reacting (4) with boron tribromide in the presence of an excess of olefin or cycloolefin, such as cyclohexene, acting as a bromine and hydrogen bromide scavenger, in a suitably halogenated solvent such as chloroform, 1,2-dichloroethane, or dichloromethane, and the like. Alternatively, the methyl ether (4) can be de-methylated to phenol (5) by reacting (4) with boron trichloride, in the presence of quaternary ammonium iodides, such as tetrabutylammonium iodide, in a suitably halogenated solvent, such as chloroform, 1,2-dichloroethane, or dichloromethane, and the like, at temperatures between -78°C and room temperature for two to twenty-four hours.

[0059] If R_{13} is a benzyl or diphenylmethyl protecting group, removal by suitably compatible hydrogenolysis techniques, known in the literature for effecting such transformations, such as hydrogen and 5% palladium-on-carbon catalysts will afford the desired phenol (5).

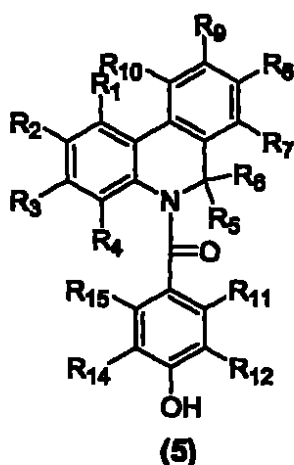
[0060] If $-OR_{13}$ is a carbonate moiety, treatment of (4) with a 1 N sodium hydroxide solution in methanol at typically 40 °C to 75 °C, for a length of time, typically about twelve hours, will remove the protecting group to afford the desired phenol (5).

Scheme 1





d



a. R₅Li, ether solvent, -78 °C to RT; b. (3) at -78 °C to RT; c. (3), DIPEA, THF; or when R₅=H (CH₃)₂-BH₃, (S)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine, THF d. When R₁₃ is methyl: BBr₃, cyclohexene, methylene chloride, 2 - 24h., (when R₅ =H, preparative chiral HPLC resolution)

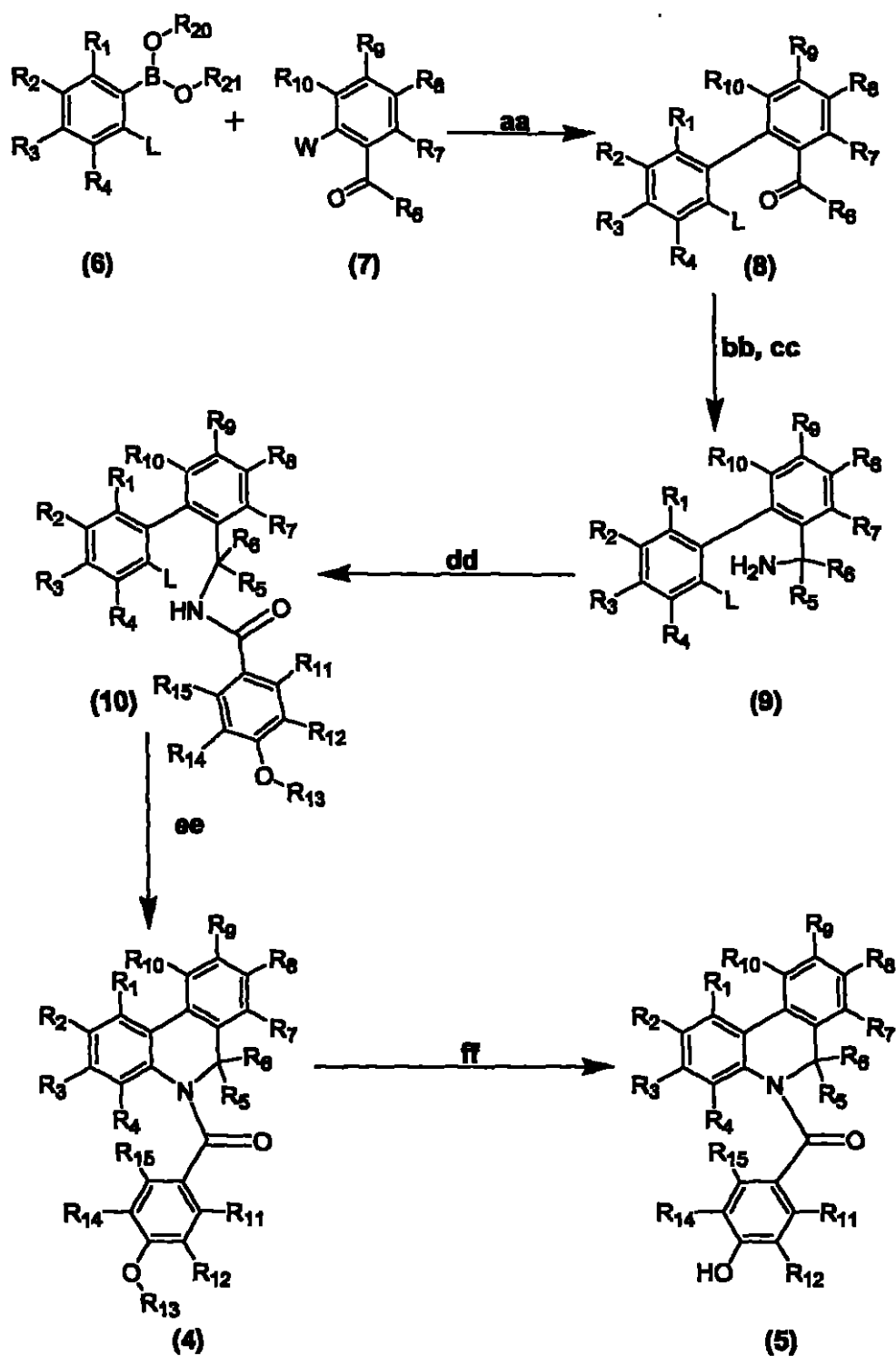
[0061] In Scheme II, step aa, a suitably substituted arylboronic acid or ester (6), either commercially available, known in the literature, or prepared according to methods known and established for the preparation of said arylboronic acids or esters, including procedures exemplified in the experimental section of this application; wherein, L is a

fluorine or chlorine atom, R_1 through R_{15} , are herein before defined and R_{20} and R_{21} can be hydrogen, lower alkyl or bridged alkyl, in the presence of a coupling catalyst, is reacted with a suitably substituted alkyl aryl ketone (7), either commercially available, known in the literature, or prepared according to methods known and established for the preparation of said alkyl aryl ketones, including procedures exemplified in the experimental section of this application; wherein, W and R_6 through R_{10} are herein before defined. The biphenylketone (8) is reacted in step bb with an ammonium source, such as ammonium chloride or ammonium acetate, and the like, either commercially available, or known in the literature, in a suitable solvent such as methanol, toluene, tetrahydrofuran, 1,2-dichloroethane, and the like, optionally in the presence of an acid catalyst such as *p*-toluenesulfonic acid or pyridinium *p*-toluenesulfonate, followed in a second step cc by reduction of the intermediate imine with an acceptable hydride source, such as sodium cyanoborohydride, sodium borohydride, lithium aluminum hydride, or diisobutylaluminum hydride, or the like. The intermediate imine can be isolated or not isolated. The conjugate base of a suitable, nucleophilic R_5 , such as methyl lithium, *tert*-butyllithium, and the like, can be substituted for the hydride source to afford a tertiary biphenylamine as the product of step cc. The biphenylamine (9) can be separated into its respective enantiomers (9*S*) and (9*R*) by subjecting (9) to either an analytical chiral separation, an enzymatic or chemical resolution, or a *de novo* enantiospecific synthesis of either (9*S*) or (9*R*) according to methods known and established in the literature for the enantiospecific synthesis of benzylic amines. The chemical resolution of (9) is carried out by employing a suitable chiral acid, either commercially available or known in the literature, according to methods known and established for the resolution of benzylic amines. The biphenylamine (9), either as the racemate or enantiomerically pure, is then reacted in step dd with an acid chloride or anhydride, in a suitable solvent such as acetonitrile, 1,2-dichloroethane, or dichloromethane, and the like, optionally in the presence of an acid scavenger such as triethylamine, diisopropylethylamine, pyridine, or potassium carbonate, and the like, and further optionally in the presence of a known acylation promoter or catalyst, such as 4-(*N,N*-dimethylamino)pyridine at -20 °C to room temperature for several hours. In step ee, treatment of the carboxamideamide (10) with lithium or potassium hexamethyldisilamide, LDA and the like, either commercially

available, or known in the literature in a suitable solvent such as tetrahydrofuran at 70 °C for 24 - 48 hours afforded phenanthridine (4). The protected phenol can be de-protected in step ff to phenol (5) as previously described.

30
0 035

Scheme II.



aa. $Pd(OAc)_2$, K_2CO_3 , tetrabutylammonium bromide, THF, 60 °C, 2 - 12h; bb. NH_4OAc , MeOH, 60 °C; cc. When R_5 is hydrogen, $NaCNBH_3$, MeOH, 60 °C, 12h; dd.

ArCOCl wherein R₁₃ is methyl: triethylamine, CH₂Cl₂, 2 - 12h; ee. KHMDS, THF, 70 °C, 16h; ff. When R₁₃ is methyl: BBr₃, cyclohexene, dichloromethane, 2 - 24h.

[0062] In preferred embodiments, the present invention concerns methods of treating a subject comprising the step of providing a therapeutically effective amount of a ligand which modulates NF-κB transcription factor by interaction with estrogen receptor ER-α, estrogen receptor ER-β, or both ER-α and ER-β estrogen receptors, preferably with a substantial absence of creatine kinase stimulation. In certain preferred embodiments, the administration is with a substantial absence of uterotrophic activity. Preferred compounds of the present invention modulate NF-κB transcription factor by interaction with estrogen receptor ER-α, estrogen receptor ER-β, or both ER-α and ER-β estrogen receptors preferably with a substantial absence of creatine kinase stimulation.

[0063] Preferred compounds of the present invention modulate, e.g., inhibit cytokine expression. For example, preferred compounds inhibit NF-κB activity and thus IL-6 expression. Accordingly, preferred compounds of the present invention possess anti-inflammatory activity and are anti-inflammatory compounds useful for the treatment of diseases associated with increased cytokine, e.g., IL-6, expression, such as chronic inflammatory disease. In a particularly preferred embodiment, compounds of the present invention do not induce creatine kinase expression and accordingly, unlike classic estrogens, do not stimulate uterine and breast cell proliferation.

[0064] The compounds according to the present invention have pharmacological properties that can be confirmed by a number of pharmacological assays, including the IL-6 and creatine kinase assays described in the example section herein. Preferably the compounds of the present invention can be used to treat chronic inflammatory disease such as atherosclerosis, myocardial infarction (MI), congestive heart failure (CHF), inflammatory bowel disease, e.g., ulcerative colitis and Crohn's disease, and arthritis, e.g., rheumatoid arthritis, and other diseases and conditions including those disclosed herein. For the purposes of the present invention, a chronic inflammatory disease is any disease characterized by chronic inflammation.

[0065] Preferred compounds of this invention are useful in treating osteoporosis and in the inhibition of bone demineralization, which may result from an imbalance in an individual's formation of new bone tissues and the resorption of older tissues, leading to a

net loss of bone. Such bone depletion results in a range of individuals, particularly in post-menopausal women, women who have undergone bilateral oophorectomy, those receiving or who have received extended corticosteroid therapies, those experiencing gonadal dysgenesis, and those suffering from Cushing's syndrome. Special needs for bone, including teeth and oral bone, replacement can also be addressed using these compounds in individuals with bone fractures, defective bone structures, and those receiving bone-related surgeries and/or the implantation of prosthesis. In addition, preferred compounds can be used in treatment or inhibition for osteoarthritis, hypocalcemia, hypercalcemia, Paget's disease, osteomalacia, osteomalacia, osteomalacia, multiple myeloma and other forms of cancer having deleterious effects on bone tissues.

[0066] Preferred compounds of the present invention are also active in the brain and are therefore useful for inhibiting or treating Alzheimer's disease, cognitive decline, decreased libido, senile dementia, neurodegenerative disorders, depression, anxiety, insomnia, schizophrenia, and infertility. Preferred compounds of the present invention are also useful in treating benign or malignant abnormal tissue growth including, glomerulosclerosis, prostatic hypertrophy, uterine leiomyomas, breast cancer, scleroderma, fibromatosis, endometriosis, endometrial cancer, polycystic ovary syndrome, endometrial polyps, benign breast disease, adenomyosis, ovarian cancer, melanoma, prostate cancer, cancers of the colon, CNS cancers, such as glioma or astroblastoma.

[0067] Preferred compounds of the present invention are cardioprotective and are antioxidants, and are useful in lowering cholesterol, triglycerides, Lp(a), and LDL levels; inhibiting or treating hypercholesterolemia, hyperlipidemia, cardiovascular disease, atherosclerosis, peripheral vascular disease, restenosis, and vasospasm, and inhibiting vascular wall damage from cellular events leading toward immune mediated vascular damage.

[0068] Preferred compounds of the present invention are also useful in treating disorders associated with inflammation or autoimmune diseases, including inflammatory bowel disease (Crohn's disease, ulcerative colitis, indeterminate colitis), arthritis (rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies, osteoarthritis), pleurisy, ischemia/reperfusion injury (e.g., stroke, transplant rejection, myocardial infarction, etc.),

0 01?
1X2

asthma, giant cell arteritis, prostatitis, uveitis, psoriasis, multiple sclerosis, systemic lupus erythematosus and sepsis.

[0069] Preferred compounds of the present invention are also useful in treating ocular disorders including cataracts, uveitis, and macular degeneration and in treating skin conditions such as aging, alopecia, and acne.

[0070] Preferred compounds of the present invention are also useful in treating metabolic disorders such as type-II diabetes, of lipid metabolism, appetite (e.g. anorexia nervosa and bulimia).

[0071] Preferred compounds of the present invention are also useful in treating bleeding disorders such as hereditary hemorrhagic telangiectasia, dysfunctional uterine bleeding, and combating hemorrhagic shock.

[0072] Preferred compounds of the present invention are useful in disease states where amenorrhea is advantageous, such as leukemia, endometrial ablations, chronic renal or hepatic disease or coagulation diseases or disorders.

[0073] The compounds of the present invention can be administered to a subject for a variety of purposes. Except when noted, the terms "subject" or "patient" are used interchangeably and refers to all mammalian species. For example, the term includes mammals such as human patients and non-human primates, as well as experimental animals such as rabbits, rats, and mice, and other animals. Accordingly, the term "subject" or "patient" as used herein means any mammalian patient or subject to which the compounds of the invention can be administered. Patients for treatment according to the methods of the invention preferably are identified using accepted screening methods to determine risk factors associated with a targeted or suspected disease or condition or to determine the status of an existing disease or condition in a subject. These screening methods include, for example, conventional work-ups to determine risk factors that may be associated with the targeted or suspected disease or condition. These and other routine methods allow the clinician to select patients in need of therapy using the methods and formulations of the present invention. A subject "in need thereof" is a subject suffering or suspected to be suffering from a certain condition or disease state treatable by the methods of the present invention.

041
23

[0074] As used herein, the term "treating" or "treatment" refers to any indicia of success in amelioration of an injury, pathology, or condition, including any objective or subjective parameter such as abatement; inhibition; remission; diminishing of symptoms or making the injury, pathology, or condition more tolerable to the patient; slowing in the rate of degeneration or decline; making the final point of degeneration less debilitating; or improving a subject's physical or mental well-being. The treatment or amelioration of symptoms can be based on objective or subjective parameters; including the results of a physical examination, neurological examination, and/or psychiatric evaluation.

"Treating" or "treatment of a disease or condition characterized by chronic inflammation" includes preventing the onset of symptoms in a subject that may be predisposed to an inflammatory disease but does not yet experience or exhibit symptoms of the disease (prophylactic treatment), inhibiting the symptoms of the disease (slowing or arresting its development), providing relief from the symptoms or side-effects of the disease (including palliative treatment), and/or relieving the symptoms of the disease (causing regression). Treating or treatment of any disease or condition disclosed herein includes preventing the onset of symptoms in a subject that may be predisposed to said disease or condition but does not yet experience or exhibit symptoms of the disease or condition (prophylactic treatment), inhibiting the symptoms of the disease or condition (slowing or arresting its development), providing relief from the symptoms or side-effects of the disease or condition (including palliative treatment), and/or relieving the symptoms of the disease or condition (causing regression). Accordingly, the term "treating" includes the administration of the compounds or agents of the present invention to a subject to prevent or delay, to alleviate, or to arrest or inhibit development of the symptoms or conditions associated with a disease state. A skilled medical practitioner will know how to use standard methods to determine whether a patient is suffering from a disease characterized by chronic inflammation and/or increased cytokine expression.

[0075] "Concomitant administration" of a known drug or treatment with a pharmaceutical composition of the present invention means administration of the drug (or treatment) and the compound of the present invention at such time that both the known drug (or treatment) and the composition of the present invention will have a therapeutic effect. Such concomitant administration can involve concurrent (*i.e.* at the same time),

04/14

prior, or subsequent administration of the drug (or treatment) with respect to the administration of a compound of the present invention. A person of ordinary skill in the art, would have no difficulty determining the appropriate timing, sequence and dosages of administration for particular drugs and compositions of the present invention. For example, the compounds of this invention can be used in combination (administered together or sequentially) with known drugs useful in the treatment of chronic inflammation.

[0076] The present invention provides compositions comprising a compound of the present invention in combination with a pharmaceutically acceptable carrier. In a preferred embodiment, the compounds are formulated as pharmaceuticals to diseases associated with chronic inflammation

[0077] In general, compounds of the present invention can be administered as pharmaceutical compositions by any method known in the art for administering therapeutic drugs including oral, buccal, topical, systemic (e.g., transdermal, intranasal, or by suppository), or parenteral (e.g., intramuscular, subcutaneous, or intravenous injection). Compositions can take the form of tablets, pills, capsules, semisolids, powders, sustained release formulations, solutions, suspensions, emulsions, syrups, elixirs, aerosols, or any other appropriate compositions; and comprise at least one compound of this invention in combination with at least one pharmaceutically acceptable excipient. Suitable excipients are well known to persons of ordinary skill in the art, and they, and the methods of formulating the compositions, can be found in such standard references as Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton PA, 1985. Suitable liquid carriers, especially for injectable solutions, include water, aqueous saline solution, aqueous dextrose solution, and glycols. In some embodiments of the present invention, compounds of the present invention suitable for use in the practice of this invention can be administered either singly or in combination with at least one other compound of this invention. Compounds suitable for use in the practice of the present invention can also be administered with at least one other conventional therapeutic agent for the disease being treated.

[0078] Aqueous suspensions of the invention can contain a compound of the present invention in admixture with excipients suitable for the manufacture of aqueous

suspensions. Such excipients can include, for example, a suspending agent, such as sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, gum tragacanth and gum acacia, and dispersing or wetting agents such as a naturally occurring phosphatide (e.g., lecithin), a condensation product of an alkylene oxide with a fatty acid (e.g., polyoxyethylene stearate), a condensation product of ethylene oxide with a long chain aliphatic alcohol (e.g., heptadecaethylene oxycetanol), a condensation product of ethylene oxide with a partial ester derived from a fatty acid and a hexitol (e.g., polyoxyethylene sorbitol mono-oleate), or a condensation product of ethylene oxide with a partial ester derived from fatty acid and a hexitol anhydride (e.g., polyoxyethylene sorbitan mono-oleate). The aqueous suspension can also, for example, contain one or more preservatives such as ethyl or n-propyl p-hydroxybenzoate, one or more coloring agents, one or more flavoring agents, and one or more sweetening agents, such as sucrose, aspartame or saccharin. Formulations can be adjusted for osmolarity.

[0079]: Oil suspensions can be formulated by suspending a compound of the present invention in a vegetable oil, such as arachis oil, olive oil, sesame oil or coconut oil, or in a mineral oil such as liquid paraffin; or a mixture of these. The oil suspensions can contain a thickening agent, such as beeswax, hard paraffin or cetyl alcohol. Sweetening agents can be added to provide a palatable oral preparation, such as glycerol, sorbitol or sucrose. These formulations can be preserved by the addition of an antioxidant such as ascorbic acid. As an example of an injectable oil vehicle, see Minto, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 281:93-102, 1997. The pharmaceutical formulations of the invention can also be in the form of oil-in-water emulsions. The oily phase can be a vegetable oil or a mineral oil, described above, or a mixture of these. Suitable emulsifying agents include naturally-occurring gums, such as gum acacia and gum tragacanth, naturally occurring phosphatides, such as soybean lecithin, esters or partial esters derived from fatty acids and hexitol anhydrides, such as sorbitan mono-oleate, and condensation products of these partial esters with ethylene oxide, such as polyoxyethylene sorbitan mono-oleate. The emulsion can also contain sweetening agents and flavoring agents, as in the formulation of syrups and elixirs. Such formulations can also contain a demulcent, a preservative, or a coloring agent.

[0080] The compound of choice, alone or in combination with other suitable components, can be made into aerosol formulations (*i.e.*, they can be "nebulized") to be administered via inhalation. Aerosol formulations can be placed into pressurized acceptable propellants, such as dichlorodifluoromethane, propane, nitrogen, and the like.

[0081] Formulations suitable for parenteral administration, such as, for example, by intraarticular (in the joints), intravenous, intramuscular, intradermal, intraperitoneal, and subcutaneous routes, include aqueous and non-aqueous, isotonic sterile injection solutions, which can contain antioxidants, buffers, bacteriostats, and solutes that render the formulation isotonic with the blood of the intended recipient, and aqueous and non-aqueous sterile suspensions that can include suspending agents, solubilizers, thickening agents, stabilizers, and preservatives. Among the acceptable vehicles and solvents that can be employed are water and Ringer's solution, an isotonic sodium chloride. In addition, sterile fixed oils can conventionally be employed as a solvent or suspending medium. For this purpose any bland fixed oil can be employed including synthetic mono- or diglycerides. In addition, fatty acids such as oleic acid can likewise be used in the preparation of injectables. These solutions are sterile and generally free of undesirable matter. Where the compounds are sufficiently soluble they can be dissolved directly in normal saline with or without the use of suitable organic solvents, such as propylene glycol or polyethylene glycol. Dispersions of the finely divided compounds can be made-up in aqueous starch or sodium carboxymethyl cellulose solution, or in suitable oil, such as arachis oil. These formulations can be sterilized by conventional, well known sterilization techniques. The formulations can contain pharmaceutically acceptable auxiliary substances as required to approximate physiological conditions such as pH adjusting and buffering agents, toxicity adjusting agents, *e.g.*, sodium acetate, sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, sodium lactate and the like. The concentration of compounds of the present invention in these formulations can vary widely, and will be selected primarily based on fluid volumes, viscosities, body weight, and the like, in accordance with the particular mode of administration selected and the patient's needs. For IV administration, the formulation can be a sterile injectable preparation, such as a sterile injectable aqueous or oleaginous suspension. This suspension can be formulated according to the known art using those suitable dispersing

or wetting agents and suspending agents. The sterile injectable preparation can also be a sterile injectable solution or suspension in a nontoxic parenterally-acceptable diluent or solvent, such as a solution of 1,3-butanediol. The formulations of compounds can be presented in unit-dose or multi-dose sealed containers, such as ampules and vials.

[0082] Injection solutions and suspensions can be prepared from sterile powders, granules, and tablets of the kind previously described.

[0083] Compounds suitable for use in the practice of this invention can be administered orally. The amount of a compound of the present invention in the composition can vary widely depending on the type of composition, size of a unit dosage, kind of excipients, and other factors well known to those of ordinary skill in the art.

[0084] Pharmaceutical formulations for oral administration can be formulated using pharmaceutically acceptable carriers well known in the art in dosages suitable for oral administration. Such carriers enable the pharmaceutical formulations to be formulated in unit dosage forms as tablets, pills, powder, dragees, capsules, liquids, lozenges, gels, syrups, slurries, suspensions, etc. suitable for ingestion by the patient. Formulations suitable for oral administration can consist of (a) liquid solutions, such as an effective amount of the packaged nucleic acid suspended in diluents, such as water, saline or PEG 400; (b) capsules, sachets or tablets, each containing a predetermined amount of the active ingredient, as liquids, solids, granules or gelatin; (c) suspensions in an appropriate liquid; and (d) suitable emulsions.

[0085] Pharmaceutical preparations for oral use can be obtained through combination of the compounds of the present invention with a solid excipient, optionally grinding a resulting mixture, and processing the mixture of granules, after adding suitable additional compounds, if desired, to obtain tablets or dragee cores. Suitable solid excipients are carbohydrate or protein fillers and include, but are not limited to sugars, including lactose, sucrose, mannitol, or sorbitol; starch from corn, wheat, rice, potato, or other plants; cellulose such as methyl cellulose, hydroxymethyl cellulose, hydroxypropylmethyl-cellulose or sodium carboxymethylcellulose; and gums including arabic and tragacanth; as well as proteins such as gelatin and collagen. If desired, disintegrating or solubilizing agents can be added, such as the cross-linked polyvinyl pyrrolidone, agar, alginic acid, or a salt thereof, such as sodium alginate. Tablet forms

48

can include one or more of lactose, sucrose, mannitol, sorbitol, calcium phosphates, corn starch, potato starch, microcrystalline cellulose, gelatin, colloidal silicon dioxide, talc, magnesium stearate, stearic acid, and other excipients, colorants, fillers, binders, diluents, buffering agents, moistening agents, preservatives, flavoring agents, dyes, disintegrating agents, and pharmaceutically compatible carriers. Lozenge forms can comprise the active ingredient in a flavor, *e.g.*, sucrose, as well as pastilles comprising the active ingredient in an inert base, such as gelatin and glycerin or sucrose and acacia emulsions, gels, and the like containing, in addition to the active ingredient, carriers known in the art.

[0086] The compounds of the present invention can also be administered in the form of suppositories for rectal administration of the drug. These formulations can be prepared by mixing the drug with a suitable non-irritating excipient which is solid at ordinary temperatures but liquid at the rectal temperatures and will therefore melt in the rectum to release the drug. Such materials are cocoa butter and polyethylene glycols.

[0087] The compounds of the present invention can also be administered by intranasal, intraocular, intravaginal, and intrarectal routes including suppositories, insufflation, powders and aerosol formulations (for examples of steroid inhalants, see Rohatagi, *J. Clin. Pharmacol.* 35:1187-1193, 1995; Tjwa, *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 75:107-111, 1995).

[0088] The compounds of the present invention can be administered in sustained or controlled release dosage forms (*e.g.*, employing a slow release bioerodable delivery system), including depot injections, osmotic pumps (such as the Alzet implant made by Alza), pills, transdermal and transcutaneous (including electrotransport) patches, and the like, for prolonged administration at a predetermined rate, preferably in unit dosage forms suitable for single administration of precise dosages. The compositions will typically include a conventional pharmaceutical carrier or excipient and a compound of the invention. In addition, these compositions can include other active agents, carriers, adjuvants, and the like.

[0089] The compounds of the present invention can be delivered transdermally, by a topical route, formulated as applicator sticks, solutions, suspensions, emulsions, gels, creams, ointments, pastes, jellies, paints, powders, and aerosols.

[0090] Encapsulating materials can also be employed with the compounds of the present invention and the term "composition" is intended to include the active ingredient in combination with an encapsulating material as a formulation, with or without other carriers. For example, the compounds of the present invention can also be delivered as microspheres for slow release in the body.

[0091] In another embodiment, the compounds of the present invention can be delivered by the use of liposomes which fuse with the cellular membrane or are endocytosed. By using liposomes, particularly where the liposome surface carries ligands specific for target cells, or are otherwise preferentially directed to a specific organ, one can focus the delivery of the compound into the target cells *in vivo*. (See, e.g., Al-Muhammed, J. Microencapsul. 13:293-306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6:698-708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46:1576-1587, 1989).

[0092] In other cases, the preferred preparation can be a lyophilized powder which can contain, for example, any or all of the following: 1 mM-50 mM histidine, 0.1%-2% sucrose, 2%-7% mannitol, at a pH range of 4.5 to 5.5, that is combined with buffer prior to use.

[0093] A pharmaceutical composition of the invention can optionally contain, in addition to a compound of the present invention, at least one other therapeutic agent useful in the treatment of a disease or condition associated with chronic inflammation.

[0094] The pharmaceutical compositions are generally formulated as sterile, substantially isotonic and in full compliance with all Good Manufacturing Practice (GMP) regulations of the U.S. Food and Drug Administration.

[0095] The present invention provides, *inter alia*, methods of inhibiting cytokine expression, e.g., IL-6 expression, in a subject for the treatment of diseases and conditions associated with increased cytokine activity. In an exemplary embodiment of the present invention, a skilled practitioner will treat a subject having a disease associated with chronic inflammation with the compounds of the present invention.

[0096] For treatment purposes, the compositions or compounds disclosed herein can be administered to the subject in a single bolus delivery, via continuous delivery (e.g., continuous transdermal, mucosal, or intravenous delivery) over an extended time period, or in a repeated administration protocol (e.g., by an hourly, daily or weekly,

repeated administration protocol). The pharmaceutical formulations of the present invention can be administered, for example, one or more times daily, 3 times per week, or weekly. In an exemplary embodiment of the present invention, the pharmaceutical formulations of the present invention are orally administered once or twice daily.

[0097] In this context, a therapeutically effective dosage of the biologically active agent(s) can include repeated doses within a prolonged treatment regimen that will yield clinically significant results to alleviate one or more symptoms or detectable conditions associated with increased cytokine activity. Determination of effective dosages in this context is typically based on animal model studies followed up by human clinical trials and is guided by determining effective dosages and administration protocols that significantly reduce the occurrence or severity of targeted exposure symptoms or conditions in the subject. Suitable models in this regard include, for example, murine, rat, and other accepted animal model subjects known in the art. Alternatively, effective dosages can be determined using *in vitro* models. Using such models, only ordinary calculations and adjustments are typically required to determine an appropriate concentration and dose to administer a therapeutically effective amount of the biologically active agent(s) (e.g., amounts that are intranasally effective, transdermally effective, intravenously effective, or intramuscularly effective to elicit a desired response). In alternative embodiments, an "effective amount" or "therapeutically effective dose" or "pharmaceutically effective dose" of the biologically active agent(s) will simply inhibit or enhance one or more selected biological activity(ies) correlated with a disease or condition, as set forth above, for either therapeutic or diagnostic purposes.

[0098] The actual dosage of biologically active agents will of course vary according to factors such as the extent of exposure and particular status of the subject (e.g., the subject's age, size, fitness, extent of symptoms, susceptibility factors, etc), time and route of administration, as well as other drugs or treatments being administered concurrently. Dosage regimens can be adjusted to provide an optimum prophylactic or therapeutic response. By "therapeutically effective dose" or "pharmaceutically effective dose" is meant a dose that produces effects for which it is administered. More specifically, a therapeutically or pharmaceutically effective dose of the compound(s) of

the invention preferably alleviates symptoms, complications, or biochemical indicia of diseases associated with increased cytokine activity. The exact dose will depend on the purpose of the treatment, and will be ascertainable by one skilled in the art using known techniques (see, e.g., Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (Vols. 1-3, 1992); Lloyd, 1999, *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding*; and Pickar, 1999, *Dosage Calculations*). A therapeutically effective dose or pharmaceutically effective dose is also one in which any toxic or detrimental side effects of the active agent is outweighed in clinical terms by therapeutically beneficial effects. It is to be further noted that for each particular subject, specific dosage regimens should be evaluated and adjusted over time according to the individual need and professional judgment of the person administering or supervising the administration of the compounds.

[0099] In an exemplary embodiment of the present invention, unit dosage forms of the compounds are prepared for standard administration regimens. In this way, the composition can be subdivided readily into smaller doses at the physicians direction. For example, unit dosages can be made up in packeted powders, vials or ampoules and preferably in capsule or tablet form.

[0100] It is understood that the effective dosage of the active compounds of this invention can vary depending upon the particular compound utilized, the mode of administration, the condition, and severity thereof, of the condition being treated, as well as the various physical factors related to the individual being treated. For treating atherosclerosis, myocardial infarction, congestive heart failure, arthritis and/or inflammatory bowel disease, generally satisfactory results may be obtained, for example, when the compounds of this invention are administered to the individual in need at a daily dosage of from about 0.1 mg to about 1 mg per kilogram of body weight, preferably administered in divided doses two to six times per day, or in a sustained release form. For most large mammals, the total daily dosage is, for example, from about 3.5 mg to about 140 mg, preferably from about 3.5 to about 5 mg. In the case of a 70 kg human adult, the total daily dose will generally be from about 7 mg to about 70 mg and may be adjusted to provide the optimal therapeutic result.

[0101] After a pharmaceutical comprising a compound of the present invention has been formulated in a suitable carrier, it can be placed in an appropriate container and

52

labeled for treatment of, for example, a disorder associated with chronic inflammation. Additionally, another pharmaceutical comprising at least one other therapeutic agent useful in the treatment of disorder associated with chronic inflammation can be placed in the container as well and labeled for treatment of the indicated disease. Alternatively, a single pharmaceutical comprising a compound of the present invention and at least one other therapeutic agent useful in the treatment of a disorder associated with chronic inflammation can be placed in an appropriate container and labeled for treatment. For administration of pharmaceuticals comprising compounds of the present invention and of pharmaceuticals comprising, in a single pharmaceutical, compounds of the present invention and at least one other therapeutic agent useful in the treatment of disorder associated with chronic inflammation, such labeling would include, for example, instructions concerning the amount, frequency and method of administration. Similarly, for administration of multiple pharmaceuticals provided in the container, such labeling would include, for example, instructions concerning the amount, frequency and method of administration of each pharmaceutical.

EXAMPLES

[0102] Example 1: Synthesis of 4-4-((6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl}phenol

[0103] Step A: 8-fluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine - A solution of 8-fluoro-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.05g, 0.23 mmol), 4-methoxybenzoyl chloride (0.04 g, 0.23 mmol) and 0.08 mL of diisopropylethylamine in 5 mL of THF was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄). The reaction mixture was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.05g, 40% yield). MS (ESI) *m/z* 348 ([M+H]⁺)

[0104] Step B: 4-((6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl}phenol - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (2.3 g, 6.6 mmol) in 50 mL of methylene chloride containing 2.0 mL of cyclohexene under N₂ atmosphere was added boron tribromide (2.9

mL, 26 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give 1.85 g of the racemate. Isomer separated by chiral prep HPLC (Chiralcel AD, 25X5 cm, 100% EtOH, 12 mL/min) to give 0.536 g of the product as °C, 99.86% ee); a white solid (m.p. 165 [α]_D²⁵ = -756° (c = 0.010G/ML, MeOH);

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.86 (s, 1 H) 1.19 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 5.74 (q, J=6.73 Hz, 1 H) 6.65 (d, J=8.79 Hz, 2 H) 6.68 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.05 (dt, J=7.70, 1.42 Hz, 1 H) 7.12 (d, J=8.54 Hz, 2 H) 7.18 (m, 1 H) 7.27 (td, J=8.79, 2.85 Hz, 1 H) 7.38 (dd, J=9.31, 2.85 Hz, 1 H) 7.91 (dd, J=7.76, 1.55 Hz, 1 H) 8.04 (dd, J=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.96 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 332 ([M-H]⁻);

[0105] **Example 2: Synthesis of 3-(((6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl}phenol**

[0106] **Step A: 8-fluoro-5-(3-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.05g, 0.23 mmol), 3-methoxybenzoyl chloride (0.033 mL, 0.23 mmol) and 0.08 mL of diisopropylethylamine in 5 mL of THF was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄). The reaction mixture was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.045g, 56% yield). MS (ESI) m/z 348 ([M+H]⁺).

[0107] **Step B: 3-(((6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl}phenol** - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(3-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.39 g, 1.1 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.5 mL of cyclohexene under N₂ atmosphere was added boron tribromide (0.495 mL, 4.48 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with

methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give the product (0.318 g, 85% yield) as a white solid. The pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Xterra MS C18, ethanol/hexane 1:1) to give the product as a white solid (0.047 g, 97.6% ee).

mp sinters 92, melts 138 °C; $[\alpha]_D^{25} = +484^\circ$ ($c = 0.010\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.76 (broad s, 1 H) 6.65 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 6.66 (s, 1 H) 6.79 (m, 2 H) 7.08 (m, 2 H) 7.21 (dt, 2 H) 7.28 (dt, 1 H) 7.38 (dd, 1H) 7.91 (dd, $J=7.76$, 1.29 Hz, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) $J=8.79$, 5.43 Hz, 1 H) 9.59 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$);

MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0108] **Example 3: Synthesis of 4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol.** Isomer separated by chiral prep HPLC from Example 1 reaction mixture (Chiralcel AD, 25X5 cm, 100% EtOH, 12 mL/min) to give 0.542 g, 99.9% ee); 0.542 g of the product as a white solid (m.p. 175 $[\alpha]_D^{25} = +562^\circ$ ($c = 0.0101\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.75 (q, $J=6.64$ Hz, 1 H) 6.65 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 6.68 (d, $J=8.28$ Hz, 1 H) 7.05 (dt, $J=7.70$, 1.42 Hz, 1 H) 7.12 (m, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.19 (dt, 2 H) 7.27 (dt, $J=8.79$, 2.85 Hz, 1 H) 7.91 (dd, $J=7.76$, 1.29 Hz, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) $J=8.79$, 5.43 Hz, 1 H) 9.97 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0109] **Example 4: Synthesis of 3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol.** The pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Xterra MS C18, ethanol/hexane 1:1) to give the product as a white solid (0.20 g, 99.8% ee). mp 162 °C; $[\alpha]_D^{25} = -566^\circ$ ($c = 0.010\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.75 (broad s, 1 H) 6.65 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 6.66 (m, 1 H) 6.79 (m, 2 H) 7.08 (m, 2 H) 7.21 (dt, 2 H) 7.28 (dt, 1 H) 7.38 (dd, 1H) 7.91 (dd, $J=7.76$, 1.29 Hz, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) $J=8.79$, 5.43 Hz, 1 H) 9.59 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FNO}_2 \cdot 0.20 \text{H}_2\text{O}$: C:74.85 H:4.91 N:4.16 Found: C:74.74 H:4.88 N:3.87.

[0110] **Example 5: Synthesis of 3-fluoro-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol**

0 0.51
55

[0111] **Step A: 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.211 g, 1.0 mmol) and 2-fluoro-4-methoxybenzoyl chloride (0.253 g, 1.35 mmol) in 5 mL of methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of 1M borane-methyl sulfide complex 1.0 mL in methylene chloride. The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.127 g, 35% of theory%)

MS (ESI) m/z 366 ([M+H]⁺).

[0112] **Step B: 3-fluoro-4-[(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol** - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.111 g, 0.3 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.2 mL of cyclohexene under N₂ atmosphere was added boron tribromide (0.11 mL, 1.0 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give 0.10 g of the racemate. Isomer separated by chiral prep HPLC (Pirkle Covalent (R,R) Whelk-01, 250X4.6 mm, EtOH/hexane 1:1) to give 0.038 g of the product as a white solid (99.8% ee)

[α]_D²⁵ = -409° (c = 0.010G/ML, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.17 (d, 3 H) 5.81 (broad s, 1 H) 6.34 (broad s, 1 H) 6.62 (broad d, 1 H) 6.77 (broad s, 1 H) 7.07 (broad m, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.38 (dd, 1 H) 7.90 (dd, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) 10.35 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 350 ([M-H]⁻).

[0113] **Example 6: Synthesis of 3-fluoro-4-[(6*S*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol**

[0114] Isolated in the above chiral prep as a white solid (0.035 g, 99.8%ee).

[α]_D²⁵ = +472° (c = 0.0095G/ML, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.17

(d, 3 H) 5.8 (broad s, 1 H) 6.35 (broad s, 1 H) 6.62 (broad d, 1 H) 6.77 (broad s, 1 H) 7.07 (broad m, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.38 (dd, 1 H) 7.90 (dd, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) 10.35 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 350 ($[M-H]$).

[0115] **Example 7: Synthesis of 4-fluoro-3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol**

[0116] **Step A: 8-fluoro-5-(2-fluoro-5-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.268 g, 1.27 mmol) and 2-fluoro-5-methoxybenzoyl chloride (0.239 mg, 1.27 mmol) in 5 mL of methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of (S)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (0.11 mL, 1M solution in toluene) and borane-methyl sulfide complex (0.75 mL, 1M solution in methylene chloride). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.250 g, 65% of theory, e.e.= 37.6% of the R isomer); MS (ESI) m/z 366 ($[M+H]^+$).

[0117] **Step B: 4-fluoro-3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol** - To a solution cooled to $-78^\circ C$ of 8-fluoro-5-(2-fluoro-5-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.206 g, 0.57 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.5 mL of cyclohexene under N_2 atmosphere was added boron tribromide (0.25 mL, 2.25 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give 0.27 g, of intermediate. The chirally pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, ethanol/hexane 1:1) to give the product as a white solid (0.092 g, 99.94% ee).

[α]_D²⁵ = -604° (c = 0.010G/ML, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1.09 (s, 1 H) 1.18 (d, *J*=6.72 Hz, 3 H) 3.38 (s, 1 H) 6.77 (s, 1 H) 7.05 (s, 1 H) 7.26 (td, *J*=8.77, 2.59 Hz, 4 H) 7.40 (s, 2 H) 7.92 (d, *J*=7.49 Hz, 1 H) 8.02 (dd, *J*=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.62 (br. s, 1 H); MS (ESI) *m/z* 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 350 ([M-H]⁻).

[0118] **Example 8: Synthesis of 4-fluoro-3-([(6*S*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol.**

[0119] Isolated in the above chiral prep (0.033 g, 99.6% ee); [α]_D²⁵ = +594° (c = 0.010G/ML, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 1.09 (s, 1 H) 1.18 (d, *J*=6.73 Hz, 3 H) 3.38 (s, 1 H) 6.77 (s, 1 H) 7.05 (s, 1 H) 7.26 (td, *J*=8.79, 2.59 Hz, 4 H) 7.40 (s, 2 H) 7.92 (d, *J*=7.50 Hz, 1 H) 8.02 (dd, *J*=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.62 (br. s, 1 H); MS (ESI) *m/z* 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 350 ([M-H]⁻).

[0120] **Example 9: Synthesis of 2-fluoro-4-([(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol**

[0121] **Step A: 8-fluoro-5-(3-fluoro-4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.268 g, 1.27 mmol) and 3-fluoro-4-methoxybenzoyl chloride (0.239 g, 1.27 mmol) in 5 mL of methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of (*S*)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (0.20 mL, 1M solution in toluene) and borane-methyl sulfide complex (0.75 mL, 1M solution in methylene chloride). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.209 g, 57% of theory). MS (ESI) *m/z* 366 ([M+H]⁺).

[0122] **Step B: 2-fluoro-4-([(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol** - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(3-fluoro-4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.191 g, 0.52 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.2 mL of cyclohexene under N₂ atmosphere was added boron tribromide (0.231 mL, 2.09 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase

was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give the product mixture (0.174 g). The chirally pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, ethanol/hexane 1:1) to give the product as a white solid (0.077 g, 99.8% ee).

$[\alpha]_D^{25} = -676^\circ$ ($c = 0.010\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.92$ Hz, 3 H) 5.74 (q, $J=6.83$ Hz, 1 H) 6.73 (d, $J=7.69$ Hz, 1 H) 6.84 (m, 2 H) 7.08 (m, 2 H) 7.22 (dt, $J=7.62$, 1.15 Hz, 1 H) 7.27 (dt, 1 H) 7.39 (dd, $J=9.22$, 2.56 Hz, 1 H) 7.93 (dd, $J=7.81$, 1.41 Hz, 1 H) 8.05 (dd, $J=8.71$, 5.38 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0123] **Example 10: Synthesis of 2-fluoro-4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol.**

[0124] Isolated in the above chiral prep (0.027 g, 99.8% ee). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.84 (s, 1 H) 1.19 (d, $J=6.92$ Hz, 3 H) 5.73 (q, $J=6.66$ Hz, 1 H) 6.76 (m, 2 H) 6.85 (m, 1 H) 7.07 (m, 2 H) 7.21 (dt, $J=7.56$, 1.02 Hz, 1 H) 7.27 (dt, $J=8.84$, 2.82 Hz, 1 H) 7.38 (dd, $J=9.22$, 2.82 Hz, 1 H) 7.93 (dd, $J=7.81$, 1.15 Hz, 1 H) 8.05 (dd, $J=8.71$, 5.64 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0125] **Example 11: Synthesis of 2-chloro-5-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol**

[0126] **Step A: 5-(4-chloro-3-methoxybenzoyl)-8-fluoro-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.211 g, 1.0 mmol) and 4-chloro-3-methoxybenzoyl chloride (0.205 g, 1.0 mmol) in 5 mL of methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of (S)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL, 1M solution in toluene) and borane-methyl sulfide complex (0.7 mL, 1M solution in methylene chloride). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.087 g, 29% of theory); MS (ESI) m/z 382/384 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

0 1157
5

[0127] **Step B: 2-chloro-5-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol** - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(4-chloro-3-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.076 g, 0.2 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.5 mL of cyclohexene under N₂ atmosphere was added boron tribromide (0.088 mL, 0.8 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give the product mixture (0.70 g). The pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, acetonitrile/ ethanol, 9:1) to give the product as a white solid (0.015 g, 99.8% ee).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.19 (d, 3 H) 5.74 (broad s, 1 H) 6.65 (broad d, 1 H) 6.77 (broad s, 1 H) 6.91 (s, 1H) 7.23 (t, 1 H) 7.5 (m, 3 H) 7.39 (dd, 1 H) 7.93 (dd, 1 H) 8.05 (dd, 1 H) 10.42 (s, 1H); MS (ESI) *m/z* 368/370 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 366/368 ([M-H]⁻).

[0128] **Example 12: Synthesis of 2-chloro-5-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol**

[0129] Isolated from the above chiral prep to give 0.02 g (99.8%ee) of the pure enantiomer. [α]_D²⁵ = +577° (c = 0.0082G/ML, MeOH); MS (ESI) *m/z* 368/370 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 366/368 ([M-H]⁻).

[0130] **Example 13: Synthesis of 2-bromo-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol**

[0131] **Step A: 5-(3-bromo-4-methoxybenzoyl)-8-fluoro-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.211 g, 1.0 mmol) and 3-bromo-4-methoxybenzoyl chloride (0.249 g, 1.0 mmol) in 5 mL of methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of (S)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL, 1M solution in toluene) and borane-methyl sulfide complex (0.7 mL, 1M solution in methylene chloride). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH.

The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.180 g, 42% of theory); MS (ESI) m/z 426/428 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0132] **Step B: 2-bromo-4-[[[(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol** - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(3-bromo-4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.175 g, 0.41 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.1 mL of cyclohexene under N_2 atmosphere was added boron tribromide (0.181 mL, 1.63 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give the product mixture (0.160 g). The chirally pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, acetonitrile/ethanol, 9:1) to give the product as a white solid (0.041 g, 99.98% ee). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.19 (d, 3 H) 5.74 (m, 1 H) 6.74 (d, 1 H) 6.77 (d, 1 H) 7.01 (dd, 1H) 7.21 dt, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.39 (dd, 1H) 7.42 (d, 1H) 7.93 (dd, 1 H) 8.05 (dd, 1 H) 10.90 (s, 1H); MS (ESI) m/z 412/414 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 410/412 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0133] **Example 14: Synthesis of 2-bromo-4-[[[(6*S*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol.**

Isolated from the above chiral prep to give 0.049 g (99.8% ee) of the title compound.

$[\alpha]_D^{25} = +533^\circ$ ($c = 0.0104\text{G/ML}$, MeOH); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.19 (d, 3 H) 5.74 (m, 1 H) 6.74 (d, 1 H) 6.77 (d, 1 H) 7.01 (dd, 1H) 7.22 dt, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.39 (dd, 1H) 7.43 (d, 1H) 7.93 (dd, 1 H) 8.05 (dd, 1 H) 10.89 (s, 1H); MS (ESI) m/z 412/414 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 410/412 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0134] **Example 15: Synthesis of 4-bromo-3-[[[(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol.**

[0135] **Step A: 5-(2-bromo-5-methoxybenzoyl)-8-fluoro-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.211 g, 1.0 mmol) and 2-bromo-5-methoxybenzoyl chloride (0.231 g, 1.0 mmol) in 5 mL of

methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of (S)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL, 1M solution in toluene) and borane-methyl sulfide complex (0.7 mL, 1M solution in methylene chloride). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product as a white solid (0.258 g, 60% of theory); MS (ESI) *m/z* 426/428 ([M+H]⁺).

[0136] **Step B: 4-bromo-3-{[(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol** - To a solution cooled to -78°C of 8-fluoro-5-(2-bromo-5-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.243 g, 0.57 mmol) in 5 mL of methylene chloride containing 0.2 mL of cyclohexene under N₂ atmosphere was added boron tribromide (0.252 mL, 2.28 mmol). The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stir overnight. The excess boron tribromide was decomposed by the dropwise addition of methanol to the ice cooled reaction mixture. The reaction mixture was diluted with methylene chloride and partitioned with 2N HCl. The organic phase was separated and concentrated in vacuo. The residual product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride/ethyl acetate, 19:1) to give the product mixture (0.210 g). The pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (Whelk-01 (S,S), ethanol/hexane 1:1) to give the product as a white solid (0.080 g, 99.8% ee). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.19 (d, *J*=6.98 Hz, 3 H) 6.06 (d, *J*=5.69 Hz, 1 H) 6.70 (m, 2 H) 6.85 (dd, 1 H) 7.03 (m, 1 H) 7.22 (m, 2 H) 7.44 (m, 2 H) 7.88 (d, *J*=7.76 Hz, 1 H) 7.99 (m, 2 H) 10.03 (s, 1 H)
MS (ESI) *m/z* 412/414 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 410/412 ([M-H]⁻).

[0137] **Example 16: Synthesis of 4-bromo-3-{[(6*S*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol.**

[0138] Isolated in the above chiral prep to give 0.055 g (98.6% ee) of the title compound.

[α]_D²⁵ = +476° (c = 0.0104G/ML, MeOH); MS (ESI) *m/z* 412/414 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 410/412 ([M-H]⁻).

[0139] **Example 17: Synthesis of 4-{[(6*R*)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}-2-methoxyphenol.**

[0140] A solution of 8-fluoro-6-methylphenanthridine (0.211 g, 1.0 mmol) and 3-methoxy-4-hydroxybenzoyl chloride (0.168 g, 1.0 mmol) in 5 mL of methylene chloride was slowly added over 1 hour to a stirred solution of (S)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL, 1M solution in toluene) and borane-methyl sulfide complex (0.7 mL, 1M solution in methylene chloride). The reaction mixture was stirred at ambient temperature overnight. The reaction mixture was partitioned with 1N NaOH. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄). The crude product was purified by flash chromatography (silica gel 60, methylene chloride) to give the product mixture (0.053 g). The pure enantiomer was isolated by chiral HPLC (AD, acetonitrile/ethanol, 9:1) to give the product as a white solid (0.033 g, 99.8% ee). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.20 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 5.76 (q, J=6.64 Hz, 1 H) 6.64 (m, 2 H) 6.71 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 6.89 (d, J=1.03 Hz, 1 H) 7.06 (td, J=7.70, 1.42 Hz, 1 H) 7.20 (td, J=7.57, 1.16 Hz, 1 H) 7.26 (td, J=8.79, 2.85 Hz, 1 H) 7.39 (dd, J=9.31, 2.85 Hz, 1 H) 7.92 (dd, J=8.02, 1.29 Hz, 1 H) 8.05 (dd, J=8.67, 5.56 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 364 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 362 ([M-H]⁻).

[0141] **Example 18: Synthesis of 4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]-2-methoxyphenol**

[0142] Isolated from the above chiral prep to give 0.02 g (98.6 % ee) of the title compound.

[α]_D²⁵ = +493° (c = 0.008G/ML, MeOH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.19 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 5.76 (q, J=6.64 Hz, 1 H) 6.64 (m, 2 H) 6.71 (d, J=8.02 Hz, 1 H) 6.88 (d, J=1.03 Hz, 1 H) 7.06 (td, J=7.70, 1.42 Hz, 1 H) 7.20 (td, J=7.57, 1.16 Hz, 1 H) 7.26 (td, J=8.79, 2.85 Hz, 1 H) 7.39 (dd, J=9.31, 2.85 Hz, 1 H) 7.92 (dd, J=7.89, 1.42 Hz, 1 H) 8.05 (dd, J=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.63 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 364 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 362 ([M-H]⁻).

[0143] **Example 19: Synthesis of 4-[[[(6S)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol**

[0144] **Step A: 6-Ethyl-8-methyl-phenanthridine** - To cold (dry ice /acetone) ethylmagnesium bromide (20 mL of 1.0 M in THF) was added a mixture of 4, 2'-difluoro-biphenyl-2-carbonitrile (4.6 mmol, 1.0 g) in 10 mL of THF, dropwise (15 min.). Stirring was continued overnight, and the reaction mixture was diluted with 10 % ammonium chloride and ethyl acetate. The organic portion was washed with water and brine and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed and the crude product flashed (dichloromethane) giving a white solid: mp 74-75 °C (0.44 g, 52%); MS *m/z* 216 ($[M+H]^+$).

[0145] **Step B: 6-ethyl-8-fluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-5,6-dihydrophenanthridine** - To a mixture of borane methyl sulfide complex (2.5 mL of 1 M solution in dichloromethane), S-2-Methyl-CBS-oxazaborolidine (1 mL of 1 M solution in toluene) and anhydrous dichloromethane (25 mL) was added a solution of 6-Ethyl-8-methyl-phenanthridine (0.906 g, 5 mmol) and 4-Methoxybenzoyl chloride (0.938 g, 5.5 mmol) in dichloromethane (10 mL), dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Sodium hydroxide (10 mL of 2 N solution) was added, the organic portion dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent removed to provide a dark liquid. The crude material was purified by flash chromatography (dichloromethane) to afford a white solid (0.95 g, 52%): mp 71-72 °C; MS *m/z* 362 ($[M+H]^+$);

[0146] **Step C: 4-{[(6*S*)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol** - To a mixture of neat boron tribromide (1.2 mL) and cyclohexene (2 mL) in anhydrous dichloromethane (20 mL) cooled with dry ice/isopropanol was added a mixture of 6-ethyl-8-fluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-5,6-dihydrophenanthridine (0.90 g, 2.5 mmol) in dichloromethane (10 mL), dropwise (20 min.) The reaction mixture was stirred overnight as the temperature rose to room temperature. The excess boron tribromide was decomposed by adding a small quantity of methanol, followed by 2 N HCl (5 mL). The organic portion was dried over anhydrous magnesium sulfate, the solvent was removed and the crude product was purified by chromatography (5% ethyl acetate-dichloromethane) to afford a tan solid (0.583g), The compound was purified by chiral HPLC to give 0.220 g of title compound. mp 103-104 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.86 (3 H, t, *J*=7.4 Hz), 1.33-1.43 (1H, m), 1.45-1.54 (1 H, m), 5.57-5.61 (1 H, m), 6.62 (2 H,

11/13/05
6A

d, $J=8.8$ Hz), 6.68 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 7.04-7.08 (3 H, m), 7.17-7.21 (1 H, m), 7.25-7.30 (1 H, m), 7.38 (1 H, dd, $J=9.3$ Hz, $J=2.7$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J=7.8$ Hz, $J=1.2$ Hz), 8.04 (1H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.92 (1H, br s); MS m/z 348 ($[M+H]^+$).

[0147] **Example 20: Synthesis of 4-[[[(6*R*)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0148] The minor isomer was also isolated in the above separation. (0.100 g): mp 105-106; ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.4$ Hz), 1.33-1.43 (1 H, m), 1.45-1.55 (1 H, m), 5.57-5.61 (1 H, m), 6.62 (2 H, d, $J=8.8$ Hz), 6.68 (1 H, d, $J=7.9$ Hz), 7.04-7.09 (3 H, m), 7.17-7.21 (1 H, m), 7.25-7.30 (1 H, m), 7.38 (1 H, dd, $J=9.2$ Hz, $J=2.7$ Hz), 7.91 (1 H, dd, $J=7.9$ Hz, $J=1.3$ Hz), 8.04 (1 H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.92 (1 H, br s);

MS m/z 348 ($[M+H]^+$).

[0149] **Example 21: Synthesis of 3-[[[(6*R*)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0150] To a mixture of borane methyl sulfide complex (0.6 mL of 1 M solution in dichloromethane), S-2-Methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL of 1 M solution in toluene) and anhydrous dichloromethane (5 mL) was added a solution of 6-Ethyl-8-methyl-phenanthridine (0.225 g, 1 mmol) and 3-methoxybenzoyl chloride (0.188 g, 1.1 mmol) in dichloromethane (5 mL), dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Sodium hydroxide (10 mL of 2 N solution) was added, the organic portion dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent removed to provide a dark liquid. The crude material was purified by chromatography (dichloromethane) to afford a white solid (.08 g, 22%). The material was taken forward without getting analyses. To a mixture of neat boron tribromide (.2 mL) and cyclohexene (0.2 mL) in anhydrous dichloromethane (10 mL) cooled with dry ice/isopropanol was added a mixture the methoxy derivative above 0.080 g, 0.2 mmol) in dichloromethane (10 mL), dropwise (20 min.) The reaction mixture was stirred overnight as the temperature rose to room temperature. The excess boron tribromide was decomposed by adding a small quantity of methanol, followed by 2 N HCl (5 mL). The organic portion was dried over anhydrous magnesium sulfate, the solvent was removed and the crude product was purified by chromatography (5% ethyl acetate-dichloromethane) to afford a

solid (0.045g), which was purified by chiral HPLC to give the major isomer: 0.030 g: mp 101-102; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.3$ Hz), 1.31-1.42 (1 H, m), 1.46-1.54 (1 H, m), 5.59 (1 H, br s), 6.56 (1 H, d, $J=7.4$ Hz), 6.61 (1 H, s), 6.76 (2 H, dd, $J=8.1$ Hz, $J=1.7$ Hz), 7.04-7.09 (2 H, m), 7.19-7.23 (1 H, m), 7.26-7.31 (1 H, m), 7.36-7.39 (1 H, m), 7.92 (1 H, dd, $J=7.9$ Hz, $J=1.2$ Hz), 8.06 (1 H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.56 (1 H, s); MS m/z 348 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0151] **Example 22: Synthesis of 4-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl}benzene-1,3-diol**

[0152] **Step A: 5-(2,4-dimethoxybenzoyl)-6-ethyl-8-fluoro-5,6-dihydrophenanthridine** - To a mixture of borane methyl sulfide complex (0.6 mL of 1 M solution in dichloromethane), S-2-Methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL of 1 M solution in toluene) and anhydrous dichloromethane (5 mL) was added a solution of 6-Ethyl-8-methyl-phenanthridine (0.225 g, 1 mmol) and 2,4-dimethoxybenzoyl chloride (0.221 g, 1.1 mmoles) in dichloromethane (5 mL), dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Sodium hydroxide (10 mL of 2 N solution) was added, the organic portion dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent removed to provide a dark liquid. The crude material was purified by chromatography (dichloromethane) to afford a white solid (0.18 g, 32%): mp 125-126 °C; MS (ESI) m/z 392 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0153] **Step B: 4-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl}benzene-1,3-diol** - To a mixture of neat boron tribromide (2 mL) and cyclohexene (0.2 mL) in anhydrous dichloromethane (10 mL) cooled with dry ice/isopropanol was added a solution of 5-(2,4-dimethoxybenzoyl)-6-ethyl-8-fluoro-5,6-dihydrophenanthridine (0.080 g, 0.2 mmol) in dichloromethane (10 mL), dropwise (20 min.) The reaction mixture was stirred overnight as the temperature rose to room temperature. The excess boron tribromide was decomposed by adding a small quantity of methanol, then 2 N HCl was added (5 mL). The organic portion was dried over anhydrous magnesium sulfate, the solvent was removed and the crude product was purified by chromatography (5% ethyl acetate-dichloromethane) to afford a solid (0.05g), which was submitted for chromatographic separation of the isomers. The major isomer: 0.012 g: mp 98-100; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 0.84 (3 H, t, $J=7.3$ Hz), 1.34-1.41 (1 H, m),

1.49-1.56 (1 H, m), 5.55 (1 H, br s), 6.10 (1 H, d, $J=1.9$ Hz), 6.14 (1 H, dd, $J=8.4$ Hz, $J=2.2$ Hz), 6.85 (1 H, d, $J=8.3$ Hz), 7.05 (1 H, t, $J=7.4$ Hz), 7.15-7.19 (1 H, m), 7.21-7.26 (1 H, m), 7.31-7.33 (2 H, m), 7.85 (1 H, dd, $J=7.8$ Hz, $J=1.3$ Hz), 7.96 (1 H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.53 (1 H, s), 9.61 (1 H, s);
MS m/z 364 ($[M+H]^+$).

[0154] **Example 23: Synthesis of 4-[(6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6*H*)-yl) carbonyl]-3-fluorophenol**

[0155] **Step A: 6-ethyl-8-fluoro-5-(2-fluoro-4-methoxybenzoyl)-5,6-dihydrophenanthridine** - To a mixture of borane methyl sulfide complex (0.5 mL of 1 M solution in dichloromethane), S-2-Methyl-CBS-oxazaborolidine (0.2 mL of 1 M solution in toluene) and anhydrous dichloromethane (5 mL) was added a solution of 6-Ethyl-8-methyl-phenanthridine (0.225 g, 1 mmol) and 2-fluoro-4-methoxybenzoyl chloride (0.20 g, 1.1 mmol) in dichloromethane (5 mL), dropwise. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Sodium hydroxide (10 mL of 2 N solution) was added, the organic portion dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent removed to provide a dark liquid. The crude material was purified by chromatography (dichloromethane) to afford a white solid (0.13 g, 33 %):

MS (ESI) m/z 380 ($[M+H]^+$);

[0156] **Step B 4-[(6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6*H*)-yl) carbonyl]-3-fluorophenol** - To a mixture of neat boron tribromide (0.1 mL) and cyclohexene (0.2 mL) in anhydrous dichloromethane (10 mL) cooled with dry ice/isopropanol was added a solution of 6-ethyl-8-fluoro-5-(2-fluoro-4-methoxybenzoyl)-5,6-dihydrophenanthridine (0.120 g, 0.3 mmol) in dichloromethane (10 mL), dropwise (20 min.) The reaction mixture was stirred overnight as the temperature rose to room temperature. The excess boron tribromide was decomposed by adding a small quantity of methanol, then 2 N HCl was added (5 mL). The organic portion was dried over anhydrous magnesium sulfate, the solvent was removed and the crude product was purified by chromatography (10% ethyl acetate-dichloromethane) to afford a solid (0.045g): mp 109-111 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.2$ Hz), 1.27-1.35 (1 H, m), 1.48-1.54 (1 H, m), 5.69 (1 H, br s), 6.33 (1 H, br s), 6.60 (1 H, d, $J=6.7$ Hz), 7.06 (1 H, br s), 7.19-7.28 (2 H, m), 7.38 (1 H,

67

d, $J=8.0$ Hz), 7.89 (1 H, d, $J=7.0$ Hz), 8.01 (1 H, dd, $J=8.5$ Hz, $J=5.3$ Hz), 10.32 (1 H, br, s); MS m/z 366 ($[M+H]^+$).

[0157] **Example 24: Synthesis of 3-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol**

[0158] **Step A: 1-(4'-chloro-2'-fluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethanone - 2-Acetylphenyl boronic acid** (5g, 30.5 mmol) and 4-chloro-2-fluoriodobenzene (8.6 g, 33.5 mmol) were dissolved in toluene/ethanol mixture (6:1, 175 mL). An aqueous solution of potassium carbonate (2M, 60 mL) and tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (1.06 g, 0.91 mmol) were added to the solution and the entire mixture was degassed using vacuum and stirring with intermittent nitrogen purge. The mixture was heated (85 °C) with stirring for 14 h. The mixture was allowed to cool and then water was added. The organic phase was separated from the aqueous phase and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate (3 x 100 mL). The organic phases were combined, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated to a crude oil. The product was isolated via flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 5-20%, methyl tert-butylether in hexane) and afforded 4.07 g (54%) of the desired product as a yellow oil. MS (EI) m/z 248.0/250.0 (M^+);

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2.45 (s, 3 H) 7.37 (m, 3 H) 7.44 (m, 1 H) 7.57 (td, $J=7.63, 1.29$ Hz, 1 H) 7.65 (td, $J=7.57, 1.42$ Hz, 1 H) 7.90 (ddd, $J=7.63, 1.42, 0.52$ Hz, 1 H)

[0159] **Step B: 1-(4'-Chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine** - To a stirred solution of 1-(4'-Chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethanone (3.2 g, 12.9 mmol) in anhydrous methanol (200 mL) was added solid ammonium acetate (19.8 g, 257 mmol). The reaction mixture was heated (60 °C, 1h) followed by the addition of a methanolic solution of sodium cyanoborohydride (1.62g, 25.8 mmol). After 16h, the methanol was removed *in vacuo* and aqueous ammonium hydroxide was added. The aqueous phase was extracted with diethyl ether (3 x 200 mL) until the amine was no longer present in the aqueous phase. The organic phase was then washed with 2N aqueous HCl (3 x 100 mL) and the aqueous phases combined. The solid formed during the acid wash was determined to be the dialkylated amine and was segregated from the aqueous phase. Aqueous sodium hydroxide was then added to the acidic aqueous phase until the solution

was basic (pH 8-9). The basic aqueous phase was extracted with diethyl ether until the primary amine was no longer detected in the aqueous phase. The combined organic phases were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated to afford a clear oil that was used without further purification.

MS [(ES+), m/z]: 233 $[\text{M}-16]^+$, benzylic cation as a result of loss of NH_2 ;

[0160] Step C: N-[1-(4'-chloro-2'-fluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-3-methoxybenzamide - To a solution of 1-(4'-Chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine (1 g, 4 mmol) and triethylamine (614 μL , 4.4 mmol) in acetonitrile was added 3-methoxybenzoyl chloride (683 mg, 4 mmol). The reaction was mixed overnight (16 h) on an orbital mixer at room temperature. The acetonitrile was removed *in vacuo* and the resulting solid dissolved in dichloromethane and applied directly to a Biotage® (40Mi) column for flash column chromatography (5-30% methyl tert-butylether in hexane) resulting in the isolation of 1.22 g (79%) of a white solid. mp 176.2-177.9 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.31 (d, $J=5.69$ Hz, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 4.96 (m, 1 H) 7.07 (dd, $J=8.02, 1.81$ Hz, 1 H) 7.16 (d, $J=7.24$ Hz, 1 H) 7.36 (m, 7 H) 7.60 (m, 2 H) 8.80 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 384/386 $[\text{M}+\text{H}]^+$; Anal. calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClFNO}_2$: C:68.84 H:4.99 N:3.65 Found: C:68.88 H:5.25 N:3.64.

[0161] Step D: 3-chloro-5-(3-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine - N-[1-(4'-Chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethyl]-3-methoxybenzamide (1.04 g, 2.7 mmol) was dissolved in anhydrous THF (10 mL) and the vial was capped and purged with an inert atmosphere. Lithium bis(trimethylsilyl)amide (4.1 mL, 1M in THF) was added to the solution and the mixture heated (70 °C). The reaction progress was monitored by LCMS and heating was discontinued upon the expense of the starting material. The THF was removed and the resulting residue was purified by flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 30-50% methyl tert-butylether in hexane) affording 537 mg (54%) of the desired product. MS [(ES+), m/z]: 364/366 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1 Cl pattern.

[0162] Step E: 3-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol - To a solution of (3-chloro-6-methyl-6H-phenanthridin-5-yl)-(3-methoxy-phenyl)-methanone (484 mg, 1.33 mmol) in dichloromethane was added cyclohexene (900 μL , 8.9 mmol). The vial was capped and purged with an inert atmosphere followed by the

addition of a 1 M solution of boron tribromide in dichloromethane (5.3 mL). The solution was mixed at room temperature using an orbital shaker. After 3 hours the reaction was cooled in an ice bath (0 °C) and quenched upon the slow addition of methanol. The clear solution was concentrated and the resulting residue was immediately purified using a Biotage® 40 Mi column of prepacked silica gel (90g), eluting with a gradient of 5-30% methyl tert-butylether in hexane at a flow rate of 50 mL/min. The fractions containing the desired product were combined and concentrated to afford 397 mg (85%) of a white solid. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.17 (d, *J*=6.73 Hz, 3 H) 5.60 (d, *J*=6.21 Hz, 1 H) 6.66 (d, *J*=7.50 Hz, 1 H) 6.69 (s, 1 H) 6.80 (ddd, *J*=8.21, 2.52, 0.91 Hz, 1 H) 6.88 (s, 1 H) 7.13 (t, *J*=7.89 Hz, 1 H) 7.25 (dd, *J*=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 7.38 (m, 3 H) 7.94 (d, *J*=8.54 Hz, 2 H) 9.63 (s, 1 H); MS (ESI) *m/z* 350/352 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 348/350 ([M-H]⁻).

[0163] **Example 25: Synthesis of 3-[[[(6*R*)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0164] The enantiomers of 3-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (367 mg, 1.05 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 100% ethanol at a flow rate of 10 mL/min. After combination of fractions and evaporation of the solvent *in vacuo*, one peak with a retention time of 3.801 minutes was isolated as a white solid (144 mg, 79% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 183.5 mg). [α]_D²⁵ = -398° (c = 0.010 g/mL, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, *J*=6.73 Hz, 3 H) 5.65 (d, *J*=6.47 Hz, 1 H) 6.70 (d, *J*=7.50 Hz, 1 H) 6.73 (s, 1 H) 6.84 (ddd, *J*=8.15, 2.46, 0.78 Hz, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 7.17 (t, *J*=7.89 Hz, 1 H) 7.28 (dd, *J*=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 7.39 (m, 2 H) 7.45 (m, 1 H) 7.98 (d, *J*=8.54 Hz, 2 H) 9.68 (s, 1 H); MS (ESI) *m/z* 350/352 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 348/350 ([M-H]⁻); HRMS: calcd for C₂₁H₁₆ClNO₂, 349.0870 (M), 350.09424 ([M+H]⁺); found (ESI+), 350.09353.

[0165] **Example 26: Synthesis of 3-[[[(6*S*)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0166] The enantiomers of 3-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (367 mg, 1.05 mmol) were separated by automated, preparative,

0 065
20

normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 100% ethanol at a flow rate of 10 mL/min. After combination of fractions and evaporation of the solvent *in vacuo*, one peak (99.9%) with a retention time of 9.771 minutes was isolated as a white solid (135 mg, 74% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 183.5 mg).

$[\alpha]_D^{25} = +440^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.64 (d, $J=6.21$ Hz, 1 H) 6.69 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 6.72 (s, 1 H) 6.83 (dd, $J=2.59, 1.03$ Hz, 1 H) 6.85 (m, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 7.16 (t, $J=7.89$ Hz, 1 H) 7.28 (dd, $J=8.41, 2.20$ Hz, 1 H) 7.39 (m, 2 H) 7.45 (m, 1 H) 7.98 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H); MS (ESI) m/z 350/352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$);

MS (ESI) m/z 348/350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$, 349.0870 (M), 350.09424 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); found (ESI+), 350.09345.

[0167] **Example 27: Synthesis of 4-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol**

[0168] **Step A: N-[1-(4'-chloro-2'-fluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-4-methoxybenzamide** - The title compound was prepared from 1-(4'-chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine (1 g, 4 mmol), triethylamine (614 μL , 4.4 mmol), and 4-methoxybenzoyl chloride (683 mg, 4 mmol) according to the procedure and in the same manner as described in Example 24, step c. The crude residue was immediately purified on a Biotage® (40Mi) column for flash column chromatography (5-30% methyl tert-butylether in hexane) resulting in the isolation of 1.22 g (79%) of a white solid. mp 165-165.9 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.31 (s, 3 H) 3.80 (s, 3 H) 4.94 (s, 1 H) 6.97 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.15 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 7.30 (s, 1 H) 7.43 (m, 2 H) 7.60 (m, 3 H) 7.82 (d, $J=7.50$ Hz, 2 H) 8.66 (s, 1 H). MS (ESI) m/z 384/386 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); Anal. calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClFNO}_2$: C:68.84 H:4.99 N:3.65 Found: C:68.81 H:5.07 N:3.65.

[0169] **Step B: 3-chloro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - The title compound was prepared from N-[1-(4'-chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethyl]-4-methoxy-benzamide (1.04 g, 2.7 mmol), anhydrous THF (10 mL), and lithium bis(trimethylsilyl)amide (4.1 mL, 1M in THF) according to the procedure and in the same manner as described in Example 24, step d. The THF was removed and the resulting residue was purified by flash column chromatography

0 007 71

(Biotage® 40 Mi, 30-50% methyl tert-butylether in hexane) affording 738 mg (75%) of the desired product. MS [(ES+), m/z]: 364/366 $[M+H]^+$, 1 Cl pattern;

[0170] **Step C: 4-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol -**

The title compound was prepared from (3-chloro-6-methyl-6*H*-phenanthridin-5-yl)-(4-methoxy-phenyl)-methanone (622 mg, 1.71 mmol), cyclohexene (900 μ L, 8.9 mmol), and 1 M solution of boron tribromide in dichloromethane (6.8 mL) according to the procedure and in the same manner as described in Example 24, step e. The crude residue was immediately purified using a Biotage® 40 Mi column of preppacked silica gel (90g), eluting with a gradient of 5-30% methyl *tert*-butylether in hexane at a flow rate of 50 mL/min. The fractions containing the desired product were combined and concentrated to afford 450 mg (75%) of a white solid. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.67 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.71 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 6.79 (d, $J=2.07$ Hz, 1 H) 7.17 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 7.26 (dd, $J=8.54$, 2.07 Hz, 1 H) 7.41 (m, 3 H) 7.98 (m, 2 H) 10.03 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 $[M+H]^+$; MS (ESI) m/z 348/350 $[M-H]^-$.

[0171] **Example 28: Synthesis of 4-[[*(6R)*-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0172] The enantiomers of 4-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (400 mg, 1.14 mmol) were separated by automated, on-column solvent change, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 20% ethanol in hexane at a flow rate of 12 mL/min with. After combination of fractions and evaporation of the solvent *in vacuo*, one peak (99.9%) with a retention time of 3.571 minutes was isolated as a white solid (194 mg, 97% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 200 mg). mp 273.5-276 °C; $[\alpha]_D^{25} = -321^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.67 (q, $J=6.90$ Hz, 1 H) 6.71 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 6.79 (d, $J=2.07$ Hz, 1 H) 7.17 (m, 2 H) 7.26 (dd, $J=8.54$, 2.07 Hz, 1 H) 7.41 (m, 3 H) 7.98 (dd, 2 H) 10.04 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 $[M+H]^+$; MS (ESI) m/z 348/350 $[M-H]^-$.

[0173] **Example 29: Synthesis of 4-[[*(6S)*-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

The enantiomers of 4-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (400 mg, 1.14 mmol) were separated by automated, on-column solvent change, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 20% ethanol in hexane at a flow rate of 12 mL/min with. After combination of fractions and evaporation of the solvent *in vacuo*, one peak (99.8%) with a retention time of 8.078 minutes was isolated as a white solid (200 mg, 100% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 200 mg). mp 273.7-276 °C; $[\alpha]_D^{25} = +393^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.67 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.71 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 6.79 (d, $J=2.07$ Hz, 1 H) 7.17 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 7.26 (dd, $J=8.41, 2.20$ Hz, 1 H) 7.41 (m, 3 H) 7.98 (m, 2 H) 10.04 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 348/350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0174] **Example 30: Synthesis of 4-[3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol.**

[0175] **Step A: N-[1-(4'-chloro-2'-fluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-2,4-dimethoxybenzamide** - The title compound was prepared from 1-(4'-chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine (500 mg, 2 mmol), triethylamine (293 μL , 2.1 mmol), and 2,4-dimethoxybenzoyl chloride (342 mg, 2 mmol) according to the procedure and in the same manner as described in Example 24, step c. The acetonitrile was removed *in vacuo* and the resulting solid dissolved in dichloromethane and applied directly to a Biotage® (40Mi) column for flash column chromatography (5-30% methyl tert-butylether in hexane) resulting in the isolation of 820 mg (99%) of a white solid. MS (ESI) m/z 414/416 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0176] **Step B: 3-chloro-5-(2,4-dimethoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - The title compound was prepared from N-[1-(4'-chloro-2'-fluoro-biphenyl-2-yl)-ethyl]-4-methoxy-benzamide (800 mg, 1.9 mmol), anhydrous THF (10 mL), and lithium bis(trimethylsilyl)amide (3.8 mL, 1M in THF) according to the procedure and in the same manner as described in Example 24, step d. The THF was removed and the resulting residue was purified by flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 30-50% methyl tert-butylether in hexane) affording 564 mg (75%) of the desired product. MS $[(\text{ES})^+]$, m/z : 394/396 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1 Cl pattern;

[0177] **Step C: 4-[3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol** - The title compound was prepared from (3-chloro-6-methyl-6H-phenanthridin-5-yl)-(4-methoxy-phenyl)-methanone (564 mg, 1.43 mmol), cyclohexene (1.45 mL, 14.5 mmol), and 1 M solution of boron tribromide in dichloromethane (8.59 mL) according to the procedure and in the same manner as described in Example 1, step e. The resulting residue was immediately purified using a Biotage® 40 Mi column of prepacked silica gel (90g), eluting with a gradient of 5-50% methyl *tert*-butylether in hexane at a flow rate of 50 mL/min. The fractions containing the desired product were combined and concentrated to afford 516 mg (98%) of an oil. MS [(ES+), m/z]: 366/368 [M+H]⁺, 1 Cl pattern; MS [(ESI-) m/z]: 364/366 ([M-H]⁻), 1 Cl pattern.

[0178] **Example 31: Synthesis of 4-[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol**

[0179] The enantiomers of 4-[3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol (410 mg, 1.12 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) column eluting with 15%isopropyl alcohol in hexane at a flow rate of 20 mL/min. After combination of fractions and evaporation of the solvent *in vacuo*, one peak (99.9%) with a retention time of 7.479 minutes was isolated as a white solid (114 mg, 28% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 205 mg). $[\alpha]_D^{25} = -367.6^\circ$ ($c = 0.0101$ g/mL, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, $J = 6.98$ Hz, 3 H) 5.64 (d, $J = 6.73$ Hz, 1 H) 6.16 (d, $J = 1.81$ Hz, 1 H) 6.23 (dd, $J = 8.41, 2.20$ Hz, 1 H) 6.99 (d, $J = 8.02$ Hz, 2 H) 7.23 (dd, $J = 8.54, 2.07$ Hz, 1 H) 7.35 (m, 2 H) 7.40 (m, 1 H) 7.92 (m, 2 H) 9.60 (s, 1 H) 9.69 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 366/368 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 364/366 ([M-H]⁻); HRMS: calcd for C₂₁H₁₆ClNO₃, 365.0819 (M), 366.08915 ([M+H]⁺); found (ESI+), 366.08918.

[0180] **Example 32: Synthesis of 4-[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol**

[0181] The enantiomers of 4-[3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol (410 mg, 1.12 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) column eluting with 15%isopropyl alcohol in hexane at a flow rate of 20 mL/min. After

combination of fractions and evaporation of the solvent *in vacuo*, one peak (99.6%) with a retention time of 9.360 minutes was isolated as a white solid (115 mg, 28% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 205 mg). $[\alpha]_D^{25} = +359.5^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.16 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.64 (d, $J=6.47$ Hz, 1 H) 6.16 (d, $J=1.55$ Hz, 1 H) 6.23 (dd, $J=8.28, 2.33$ Hz, 1 H) 6.99 (d, $J=8.28$ Hz, 2 H) 7.23 (dd, $J=8.54, 2.07$ Hz, 1 H) 7.35 (m, 2 H) 7.40 (m, 2 H) 7.92 (dd, 2 H) 9.60 (s, 1 H) 9.69 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 366/368 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 364/366 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClNO}_3$, 365.0819 (M), 366.08915 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); found (ESI+), 366.0892.

[0182] **Example 33: Synthesis of 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol**

[0183] **Step A: 1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethanone - 2,4-Difluorophenyl boronic acid** (9.47 g, 60 mmol), tetrabutylammonium bromide (16.1 g, 50 mmol), and potassium carbonate (20.7 g, 150 mmol) were added to a flask followed by water (50 mL). The contents were mixed until most of the dissolvable solids were in solution. To the remaining slurry was added 2'-bromoacetophenone (9.95 g, 50 mmol) and palladium acetate (1.12 g, 5 mmol). The flask was equipped with a condenser and the contents were heated (70 °C) with stirring while the system was immersed with a nitrogen atmosphere. After 12 h, TLC analysis indicated the formation of a single product at the expense of 2'-bromoacetophenone. Heating was discontinued and the reaction was allowed to cool. Ethyl acetate (500 mL) was added and the organic phase was extracted with water (3 x 100 mL). The combined water phase was extracted once with additional ethyl acetate and the organic phases were combined, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated to provide a crude oil. The product was isolated via flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 5-20%, methyl *tert*-butyl ether in hexane) and afforded 5.7 g (49%) of the desired product as a yellow oil. MS (EI) m/z 233 (M^+); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.42 (s, 3 H) 7.16 (m, 1 H) 7.27 (ddd, $J=10.57, 9.29, 2.43$ Hz, 1 H) 7.39 (m, 2 H) 7.56 (td, $J=7.56, 1.54$ Hz, 1 H) 7.64 (td, $J=7.49, 1.41$ Hz, 1 H) 7.86 (dd, $J=7.43, 1.28$ Hz, 1 H).

[0184] **Step B: 1-(2',4'-difluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine** - The title compound was prepared from 1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethanone (3.67 g, 15.8 mmol), anhydrous methanol (200 mL), ammonium acetate (12.2 g, 158 mmol), and sodium cyanoborohydride (1.99 g, 31.6 mmol) according to the procedure and in the same manner as described in Example 24, step b resulting in the isolation of a clear oil that was used without further purification. MS [(ES+), *m/z*]: 217 [M-16]⁺, benzylic cation as a result of the loss of NH₂.

[0185] **Step C: N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-3-methoxybenzamide** - 3-Methoxybenzoyl chloride (731 mg, 4.28 mmol) was added to a solution of 1-(2',4'-difluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine (1.0 g, 4.28 mmol) and triethylamine (717 μ L, 5.1 mmol) in dichloromethane (10 mL). The reaction was mixed overnight (16 h) on an orbital mixer at room temperature. The volume of dichloromethane was reduced *in vacuo* by 50% and the reaction contents were applied directly to a Biotage® (40Mi) column for flash column chromatography (5-30% methyl tert-butylether in hexane) resulting in the isolation of 1.52 g (97%) of a white solid. mp 163.9-165 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.30 (br d, *J*=6.21 Hz, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 4.96 (br m, 1 H) 7.07 (dd, *J*=8.02, 1.81 Hz, 1 H) 7.15 (d, *J*=7.50 Hz, 2 H) 7.32 (m, 4 H) 7.44 (m, 2 H) 7.63 (s, 2 H) 8.79 (s, 1 H); MS (ESI) *m/z* 368 ([M+H]⁺); Anal. calcd for C₂₂H₁₉F₂NO₂: C:71.92 H:5.21 N:3.81 Found: C:71.54 H:5.27 N:3.73

[0186] **Step D: 3-fluoro-5-(3-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-3-methoxybenzamide (1.29 g, 3.5 mmol) was dissolved in anhydrous THF (10 mL) and the vial was capped and purged with an inert atmosphere. Lithium bis(trimethylsilyl)amide (4.0 mL, 1M in THF) was added to the solution and the mixture heated (70 °C). The reaction progress was monitored by LCMS and heating was discontinued upon the expense of the starting material. The THF was removed and 2N aqueous HCl was added. The product was extracted with ethyl acetate (3x) and the combined organic phases were dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated to provide a crude oil. The residue was purified by flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 30-50% methyl tert-butylether in hexane) affording 1.0 g (82%) of the desired product. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.22 (d, *J*=6.76 Hz, 3 H) 3.71 (s, 3 H) 5.67 (s, 1 H) 6.77 (d, *J*=7.28 Hz,

2 H) 6.93 (s, 1 H) 7.03 (ddd, $J=8.32, 2.73, 0.91$ Hz, 1 H) 7.10 (td, $J=8.71, 2.60$ Hz, 1 H) 7.26 (t, $J=7.93$ Hz, 1 H) 7.40 (m, 3 H) 7.97 (d, $J=7.54$ Hz, 1 H) 8.01 (dd, $J=8.84, 6.24$ Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 348 ($[M+H]^+$);

HRMS: calcd for $C_{22}H_{18}FNO_2$, 347.1322 (M), 348.13944 ($[M+H]^+$); found (ESI-FT), 348.13903; Anal. Calcd for $C_{22}H_{18}FNO_2$: C, 76.07; H, 5.22; N, 4.03. Found: C, 76.02; H, 5.32; N, 3.97.

[0187] **Step E: 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol -**

To a solution of 3-fluoro-5-(3-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (878 mg, 2.5 mmol) in dichloromethane was added cyclohexene (1.0 mL, 10.1 mmol). The vial was capped and purged with an inert atmosphere followed by the addition of a 1 M solution of boron tribromide in dichloromethane (10 mL). The solution was mixed at room temperature using an orbital shaker. After 3 hours the reaction was cooled in an ice bath (0 °C) and quenched upon the slow addition of methanol. The clear solution was concentrated and the resulting residue was immediately purified using a Biotage® 40 Mi column of prepacked silica gel (90g), eluting with a gradient of 5-30% methyl tert-butylether in hexane at a flow rate of 50 mL/min. The fractions containing the desired product were combined and concentrated to afford 731 mg (85%) of a white solid.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.66 (q, 1 H) 6.71 (m, 3 H) 6.84 (ddd, $J=8.21, 2.52, 0.91$ Hz, 1 H) 7.09 (td, $J=8.54, 2.59$ Hz, 1 H) 7.16 (t, $J=7.76$ Hz, 1 H) 7.37 (m, 2 H) 7.44 (td, $J=7.37, 1.81$ Hz, 1 H) 7.97 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 8.00 (dd, $J=8.79, 6.21$ Hz, 1 H) 9.66 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[M-H]^-$).

[0188] **Example 34: Synthesis of 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol**

[0189] The enantiomers of 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (660 mg, 1.98 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 100% acetonitrile at a flow rate of 20 mL/min with. The fractions containing the first peak were combined and concentrated *in vacuo*, to provide one peak (99.9%) with a retention time of 2.708 minutes was isolated as a white solid (270 mg, 82% based

upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 330 mg). $[\alpha]_D^{25} = -545^\circ$ ($c = 0.0105$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.66 (q, $J=6.38$ Hz, 1 H) 6.69 (d, $J=7.24$ Hz, 2 H) 6.72 (s, 1 H) 6.83 (ddd, $J=8.15, 2.46, 0.78$ Hz, 1 H) 7.09 (td, $J=8.67, 2.59$ Hz, 1 H) 7.16 (t, $J=7.89$ Hz, 1 H) 7.37 (m, 2 H) 7.44 (td, 1 H) 7.96 (d, $J=7.76$ Hz, 1 H) 8.00 (dd, $J=8.79, 6.47$ Hz, 1 H) 9.66 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FNO}_2$, 333.1165 (M), 334.12379 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); found (ESI+), 334.12345.

[0190] **Example 35: Synthesis of 3-([(6*S*)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0191] The enantiomers of 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol (660 mg, 1.98 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 100% acetonitrile at a flow rate of 20 mL/min with. The fractions containing the second peak were combined and concentrated *in vacuo*, affording a white solid (270 mg, 82% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 330 mg one peak (99.9%) with a retention time of 3.894 minutes; $[\alpha]_D^{25} = +490^\circ$ ($c = 0.0102$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.66 (q, 1 H) 6.69 (d, $J=7.50$ Hz, 2 H) 6.72 (s, 1 H) 6.83 (ddd, $J=8.15, 2.46, 1.03$ Hz, 1 H) 7.09 (m, 1 H) 7.16 (t, $J=7.89$ Hz, 1 H) 7.37 (m, 2 H) 7.44 (m, $J=7.37, 7.37, 1.81$ Hz, 1 H) 7.96 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 8.00 (dd, $J=8.79, 6.21$ Hz, 1 H) 9.66 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FNO}_2$, 333.1165 (M), 334.12379 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); found (ESI+), 334.12344.

[0192] **Example 36: Synthesis of 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0193] **Step A: N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-4-methoxybenzamide** - The title compound was prepared from 4-methoxybenzoyl chloride (731 mg, 4.28 mmol), 1-(-2',4'-difluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine (1 g, 4.28 mmol), and triethylamine (717 μL , 5.1 mmol) according to the procedure and in the same manner as described in Example 33, step c. The product was isolated from a Biotage® (40Mi) column for flash column chromatography (5-30% methyl tert-butylether in hexane) resulting in the isolation of a white solid, 1.53 g (97%).

mp 134.5-135 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.29 (d, J=5.43 Hz, 3 H) 3.80 (s, 3 H) 4.96 (m, J=5.95 Hz, 1 H) 6.97 (d, J=9.05 Hz, 2 H) 7.18 (m, 2 H) 7.36 (m, 3 H) 7.64 (d, J=4.14 Hz, 2 H) 7.83 (d, J=7.50 Hz, 2 H) 8.66 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 368 ([M+H]⁺);

Anal. calcd for C₂₂H₁₉F₂NO₂: C:71.92 H:5.21 N:3.81 Found: C:72.11 H:5.23 N:3.77

[0194] **Step B: 3-fluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-**

dihydrophenanthridine - The title compound was prepared from *N*-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-4-methoxybenzamide (1.29 g, 3.5 mmol), anhydrous THF (10 mL), and lithium bis(trimethylsilyl)amide (4.0 mL, 1M in THF) according to the procedure and in the same manner as described in Example 33, step d. The residue was purified by flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 30-50% methyl tert-butylether in hexane) affording 1.1 g (90%) of the desired product. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, J=6.76 Hz, 3 H) 3.77 (s, 3 H) 5.68 (q, J=6.67 Hz, 1 H) 6.60 (dd, J=10.39, 2.60 Hz, 1 H) 6.90 (d, J=8.84 Hz, 2 H) 7.07 (td, J=8.64, 2.73 Hz, 1 H) 7.27 (d, J=8.58 Hz, 2 H) 7.40 (m, 3 H) 7.97 (m, 1 H) 8.00 (dd, J=8.84, 6.24 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 348 ([M+H]⁺); HRMS: calcd for C₂₂H₁₈FNO₂, 347.1322 (M), 348.13944 ([M+H]⁺); found (ESI-FT), 348.13914.

[0195] **Step C: 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol** -

The title compound was prepared 3-fluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (977 mg, 2.8 mmol), cyclohexene (1.2 mL, 11.3 mmol), and 1 M solution of boron tribromide in dichloromethane (11.3 mL) according to the procedure and in the same manner as described in Example 33, step e. The crude residue was immediately purified using a Biotage® 40 Mi column of prepacked silica gel (90g), eluting with a gradient of 5-30% methyl tert-butylether in hexane at a flow rate of 50 mL/min. The fractions containing the desired product were combined and concentrated to afford 773 mg (90%) of a white solid.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 5.67 (q, J=6.73 Hz, 1 H) 6.56 (dd, J=10.60, 2.59 Hz, 1 H) 6.70 (d, J=8.79 Hz, 2 H) 7.06 (td, J=8.54, 2.59 Hz, 1 H) 7.16 (d, J=8.28 Hz, 2 H) 7.39 (m, 3 H) 7.96 (d, J=7.76 Hz, 1 H) 7.99 (dd, J=8.92, 6.34 Hz, 1 H) 10.03 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 332 ([M-H]⁻).

[0196] **Example 37: Synthesis of 4-[[[(6*R*)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0197] The enantiomers of 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (720 mg, 2.16 mmol) were separated by automated, on-column solvent change, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 35% hexane in ethanol at a flow rate of 15 mL/min with. The fractions containing the first peak were combined and concentrated *in vacuo*, to provide one peak (99.9%) with a retention time of 3.620 minutes was isolated as a white solid (318 mg, 88% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 360 mg). mp 235.7-236.8 °C; $[\alpha]_D^{25} = -648^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.68 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.56 (dd, $J=10.48, 2.46$ Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.06 (td, $J=8.60, 2.72$ Hz, 1 H) 7.16 (m, 2 H) 7.35 (m, 1 H) 7.42 (m, 2 H) 7.98 (td, $J=8.73, 7.11$ Hz, 2 H) 10.04 (s, 1 H)

MS (ESI) m/z 334 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[M-H]^-$).

[0198] **Example 38: Synthesis of 4-[[[(6*S*)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol**

[0199] The enantiomers of 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (720 mg, 2.16 mmol) were separated by automated, on-column solvent change, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) column eluting with 35% hexane in ethanol at a flow rate of 15 mL/min with. The fractions containing the second peak were combined and concentrated *in vacuo*, to provide one peak (99.8%) with a retention time of 8.095 minutes was isolated as a white solid (345 mg, 96% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 360 mg). mp 236.6-237.8 °C; $[\alpha]_D^{25} = +581^\circ$ ($c = 0.0107$ g/mL, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.68 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.56 (dd, $J=10.60, 2.59$ Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.06 (td, $J=8.54, 2.59$ Hz, 1 H) 7.16 (m, 2 H) 7.35 (m, 1 H) 7.42 (m, 2 H) 7.98 (td, $J=8.79, 6.98$ Hz, 2 H) 10.04 (s, 1 H)

MS (ESI) m/z 334 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[M-H]^-$).

[0200] **Example 39: Synthesis of 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]benzene-1,3-diol**

[0201] **Step A: N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-2,4-dimethoxybenzamide** - The title compound was prepared from 2,4-dimethoxybenzoyl chloride (860 mg, 4.28 mmol), 1-(2',4'-difluoro-biphenyl-2-yl)-ethylamine (1 g, 4.28 mmol), and triethylamine (717 uL, 5.1 mmol) according to the procedure and in the same manner as described in Example 33, step c resulting in the isolation of 1.47 g (86%) of a white solid. mp 134.8-135.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.29 (d, J=5.95 Hz, 3 H) 3.81 (s, 3 H) 3.92 (s, 3 H) 4.93 (d, J=6.73 Hz, 1 H) 6.59 (dd, J=8.79, 2.33 Hz, 1 H) 6.64 (d, J=2.33 Hz, 1 H) 7.18 (m, 2 H) 7.49 (m, 6 H) 8.29 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 398 ([M+H]⁺); Anal. calcd for C₂₃H₂₁F₂NO₃: C:69.51 H:5.33 N:3.52 Found: C:69.27 H:5.30 N:3.39

[0202] **Step B: 3-fluoro-5-(2,4-dimethoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - The title compound was prepared from N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]-2,4-dimethoxybenzamide (1.29 g, 3.2 mmol), anhydrous THF (10 mL), and lithium bis(trimethylsilyl)amide (4.0 mL, 1M in THF) according to the procedure and in the same manner as described in Example 33, step d. The resulting residue was purified by flash column chromatography (Biotage® 40 Mi, 30-50% methyl tert-butylether in hexane) affording 1.2 g (99%) of the desired product. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.76 Hz, 3 H) 3.79 (br m, 6 H) 3.92 (s, 1 H) 6.28 (s, 1 H) 6.62 (m, 1 H) 7.06 (s, 1 H) 7.34 (br m, 1 H) 7.42 (br m, 3 H) 7.52 (br d, J=7.54 Hz, 1 H) 7.96 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 378 ([M+H]⁺); HRMS: calcd for C₂₃H₂₀FN₃, 377.1427 (M), 378.15000 ([M+H]⁺); found (ESI-FT), 378.14878

[0203] **Step C: 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]benzene-1,3-diol** - The title compound was 3-fluoro-5-(2,4-dimethoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (1.25 mg, 3.3 mmol), cyclohexene (1.74 mL, 16.5 mmol), and 1 M solution of boron tribromide in dichloromethane (16.5 mL) according to the procedure and in the same manner as described in Example 33, step e. The crude residue was immediately purified using a Biotage® 40 Mi column of prepacked silica gel (90g), eluting with a gradient of 5-30% methyl tert-butylether in hexane at a flow rate of 50

mL/min. The fractions containing the desired product were combined and concentrated to afford 1.0 g (85%) of a white solid. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 5.65 (d, J=6.73 Hz, 1 H) 6.16 (d, J=1.81 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 6.75 (d, J=9.83 Hz, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.04 (td, J=8.60, 2.72 Hz, 1 H) 7.36 (m, 3 H) 7.90 (d, J=7.50 Hz, 1 H) 7.94 (dd, J=8.92, 6.34 Hz, 1 H) 9.62 (s, 1 H) 9.70 (s, 1 H)

MS (ESI) *m/z* 350 ([M+H]⁺); MS (ESI) *m/z* 348 ([M-H]⁻); HRMS: calcd for C₂₁H₁₆FNO₃, 349.1114 (M), 348.10414 ([M+H]⁺); found (ESI-), 348.10418.

[0204] **Example 40: Synthesis of 4-(((6*R*)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl)benzene-1,3-diol**

[0205] The enantiomers of 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]benzene-1,3-diol (800 mg, 2.29 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) column eluting with 15% isopropyl alcohol in hexane at a flow rate of 20 mL/min with. The fractions containing the first peak were combined and concentrated *in vacuo*, to provide one peak (99.9%) with a retention time of 7.971 minutes was isolated as a white solid (224 mg, 56% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 400 mg). mp 184-187 °C; [α]_D²⁵ = -665° (c = 0.0104 g/mL, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 5.65 (m, J=6.73 Hz, 1 H) 6.16 (d, J=1.81 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 6.75 (d, J=9.83 Hz, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.04 (td, J=8.67, 2.59 Hz, 1 H) 7.33 (m, 2 H) 7.39 (m, 1 H) 7.90 (d, J=7.76 Hz, 1 H) 7.94 (dd, J=8.79, 6.21 Hz, 1 H) 9.62 (s, 1 H) 9.70 (s, 1 H); MS (ESI) *m/z* 350 ([M+H]⁺);

MS (ESI) *m/z* 348 ([M-H]⁻); HRMS: calcd for C₂₁H₁₆FNO₃, 349.1114 (M), 350.1187 ([M+H]⁺); found (ESI+), 350.1181.

[0206] **Example 41: Synthesis of 4-(((6*S*)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl)benzene-1,3-diol**

[0207] The enantiomers of 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]benzene-1,3-diol (800 mg, 2.29 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) column eluting with 15% isopropyl alcohol in hexane at a flow rate of 20 mL/min with.

82
117

The fractions containing the second peak were combined and concentrated *in vacuo*, to provide one peak (99.3%) with a retention time of 9.345 minutes was isolated as a white solid (220 mg, 55% based upon a 1:1 ratio of enantiomers with a theoretical maximum amount of 400 mg). mp 182-184 °C; $[\alpha]_D^{25} = +618^\circ$ ($c = 0.0101$ g/mL, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.16 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.65 (d, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.16 (d, $J=1.81$ Hz, 1 H) 6.22 (dd, $J=8.41, 2.20$ Hz, 1 H) 6.75 (d, $J=10.35$ Hz, 1 H) 6.98 (d, $J=8.28$ Hz, 1 H) 7.04 (td, $J=8.60, 2.72$ Hz, 1 H) 7.33 (m, 2 H) 7.39 (ddd, $J=7.70, 6.79, 2.07$ Hz, 1 H) 7.90 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 7.94 (dd, $J=8.79, 6.47$ Hz, 1 H) 9.62 (s, 1 H) 9.70 (s, 1 H)

MS (ESI) m/z 350 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 348 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FNO}_3$, 349.1114 (M), 350.1187 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); found (ESI+), 350.11817.

[0208] **Example 42: Synthesis of 4-[(3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol**

[0209] **Step A: 4-Methoxy-N-[1-(2',4,4'-trifluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]benzamide** - A stirred solution of 1-(2',4,4'-trifluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethylamine (0.71 g, 2.84 mmol) in dichloromethane (5 mL) was treated with 4-methoxybenzoyl chloride (0.51 g, 3.0 mmol), and *N,N*-diisopropylethylamine (0.77 g, 6.0 mmol). The reaction was stirred at room temperature for twelve hours, and the solvent evaporated *in vacuo* to a crude oil. The crude oil was purified by preparative liquid chromatography on a Biotage® 40 Mi column of pre-packed silica gel (90 g), eluting with a gradient of between 5% and 50% methyl *tert*-butyl ether in hexane at a flow rate of 40 mL/min to afford, after evaporation of the solvent, a colorless oil. Crystallization of the colorless oil from ethyl acetate-hexane yielded the title compound (0.98 g, 2.54 mmol, 90%) as a homogeneous, colorless, crystalline solid, m.p. 163-165 °C; MS $[(+\text{ESI}), m/z]$: 386 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

IR (Solid), ν_{max} : 3257, 1620, 1606, 1503, 1329, 1249, 1175, 1032, 844, 777, 670 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.29 (d, $J=5.4$ Hz, 3H), 3.80 (s, 3H), 4.93 (broad s, 1H), 6.93 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.14 (td, $J=8.5, 2.7$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J=8.5, 5.9$ Hz, 2H), 7.37 (t, 2H), 7.46 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=4.7$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 8.66 (d, $J=3.9$ Hz, 1H), exists as approximate 2:1 mixture of rotamers; Anal. calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_2$: C, 68.57; H, 4.71; N, 3.63. Found: C, 68.65; H, 4.80 N, 3.48.

0 67?
83

[0210] **Step B: 3,8-Difluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine** - A stirred solution of 4-methoxy-*N*-[1-(2',4,4'-trifluoro-1,1'-biphenyl-2-yl)ethyl]benzamide (0.95 g, 2.46 mmol) in tetrahydrofuran was treated under nitrogen with a 1.0 M solution of lithium bis(trimethylsilyl) amide in tetrahydrofuran (5 mL, 5.0 mmol) and heated at 70 °C for fifteen hours. The reaction mixture was cooled to room temperature and the solvent removed *in vacuo* to afford a residue. The residue was dissolved in ethyl acetate and washed sequentially with a 1 N hydrochloric acid solution and water. The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered, and the solvent removed *in vacuo* to afford a crude solid. The crude solid was purified by preparative liquid chromatography on a Biotage® 40 Mi column of pre-packed silica gel (90 g), eluting with a gradient of between 3% and 15% methyl *tert*-butyl ether in hexane to afford, after crystallization from ethyl acetate-hexane, the title compound (0.36 g, 0.99 mmol, 40%) as a homogeneous, colorless, crystalline solid, m.p. 98-100 °C; MS [(+ESI), *m/z*]: 366 [M+H]⁺; IR (Solid), ν_{max} : 2920, 1630, 1600, 1580, 1510, 1495, 1385, 1320, 1250, 870, 840, 810 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.22 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.77 (s, 3H), 5.73 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H), 6.59 (dd, *J* = 10.3, 2.3 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.07 (td, *J* = 8.6, 2.7 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.27 (td, *J* = 8.5, 3.2 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J* = 8.9, 6.3 Hz, 1H), 8.02 (dd, *J* = 8.5, 5.4 Hz, 1H); Anal. calcd for C₂₂H₁₇F₂NO₂: C, 72.32; H, 4.69; N, 3.83. Found: C, 71.82; H, 4.52; N, 3.76.

[0211] **Step C: 4-[(3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol** - A stirred suspension of 3,8-difluoro-5-(4-methoxybenzoyl)-6-methyl-5,6-dihydrophenanthridine (0.20 g, 0.55 mmol) and cyclohexene (1.64 g, 20.0 mmol) was treated at room temperature under nitrogen with a solution of 1.0 M boron tribromide in dichloromethane (4.0 mL, 4.0 mmol). After stirring for approximately two hours at room temperature, the reaction was cooled to -20 °C and quenched with methanol (5 mL). The solvent was evaporated *in vacuo* to a dark oil. The dark oil was purified by preparative liquid chromatography on a Biotage® 40 Mi column of pre-packed silica gel (90 g), eluting with a gradient of between 5% and 30% methyl *tert*-butyl ether in hexane at a flow rate of 50 mL/min to afford, after evaporation of the solvent *in vacuo* and trituration with diethyl ether-hexane, the title compound (0.19 g, 0.54 mmol,

99%) as a homogeneous, colorless, racemic solid, m.p. 193-195 °C; MS [(+ESI), m/z]: 352 [M+H]⁺;

MS [(-ESI), m/z]: 350 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.21 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 5.71 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.55 (dd, *J* = 10.5, 2.5 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.06 (td, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.27 (td, *J* = 8.8, 2.7 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, 1H), 7.97 (dd, *J* = 9.0, 6.4 Hz, 1H), 8.01 (dd, *J* = 9.1, 6.0 Hz, 1H), 10.04 (s, 1H).

[0212] **Example 43: Synthesis of 4-[(6*R*)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol***

[0213] The enantiomers of 4-[(3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol (0.15 g, 0.43 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD-H[®] (2 x 25 cm) column eluting with ethanol at a flow rate of 10 mL/min. After evaporation of the solvent *in vacuo*, peak one with a retention time at 6.0 minutes and monitored by ultraviolet detection yielded, after trituration with diethyl ether-hexane, 4-[(6*R*)-3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl}phenol* (0.05 g, 0.14 mmol, 33%) as a homogeneous, colorless, amorphous solid, m.p. 138-140 °C; T_R = 6.0 minutes;

[α]_D²⁵ = -560° (c = 10.0 mg/mL in CHCl₃); MS [(+ESI), m/z]: 352 [M+H]⁺; MS [(-ESI), m/z]: 350 [M-H]⁻; IR (Solid), ν_{max}: 3300, 1606, 1570, 1510, 1495, 1390, 1330, 1265, 1225, 870, 810 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.21 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 5.71 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.55 (dd, *J* = 10.5, 2.5 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.06 (td, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.27 (td, *J* = 8.8, 2.7 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, 1H), 7.07 (dd, *J* = 9.0, 6.4 Hz, 1H), 8.01 (dd, *J* = 9.0, 5.6 Hz, 1H), 10.06 (s, 1H); Anal. calcd for C₂₁H₁₅F₂NO₂: C, 71.79; H, 4.30; N, 3.99. Found: C, 71.83; H, 4.96; N, 3.54.

*The stereochemical configuration is not absolute and was assigned arbitrarily.

[0214] **Example 44:** Synthesis of 4-[[[(6*S*)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol]*

[0215] The enantiomers of 4-[(3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl)carbonyl]phenol (0.15 g, 0.43 mmol) were separated by automated, preparative, normal phase, chiral chromatography on a Chiralpak AD-H[®] (2 x 25 cm) column eluting with ethanol at a flow rate of 10 mL/min. After evaporation of the solvent *in vacuo*, peak two with a retention time at 9.5 minutes and monitored by ultraviolet detection yielded, after trituration with hexane, 4-[[[(6*S*)-3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]phenol* (0.04 g, 0.11 mmol, 26%) as a homogeneous, colorless, amorphous solid, m.p. 135-138 °C; T_R = 9.5 minutes; $[\alpha]_D^{25} = +561^\circ$ ($c = 10.0$ mg/mL in CHCl_3); MS [(+ESI), m/z]: 352 $[\text{M}+\text{H}]^+$; MS [(-ESI), m/z]: 350 $[\text{M}-\text{H}]^-$; IR (Solid), ν_{max} : 3300, 1606, 1570, 1510, 1495, 1390, 1330, 1265, 1225, 870, 810 cm^{-1} ; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.21 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 5.71 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.55 (dd, $J = 10.4, 2.6$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.06 (td, $J = 8.7, 2.6$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.27 (td, $J = 8.8, 2.7$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), 7.97 (dd, $J = 8.7, 6.4$ Hz, 1H), 8.01 (dd, $J = 8.8, 5.5$ Hz, 1H), 10.05 (m, 1H); Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{F}_2\text{NO}_2$: C, 71.79; H, 4.30; N, 3.99. Found: C, 70.68; H, 4.50; N, 3.69.

*The stereochemical configuration is not absolute and was assigned arbitrarily.

[0216] **Example 45:** Synthesis of 4-[[[(6*R*)-3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]-2-fluorophenol

[0217] 4-[[[(6*R*)-3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6*H*)-yl]carbonyl]-2-fluorophenol was prepared in a similar fashion as outlined in example 42. It was purified by chiral HPLC.

$[\alpha]_D^{25} = -453.7^\circ$ ($c = 10$ mg/mL, MeOH); MS (ES) m/z 369.8.

Example 46:

[0218] Representative compounds of this invention were evaluated in the following standard pharmacological test procedures which demonstrated

0 83 ?
86

antiinflammatory activity. The test procedures used and the results obtained are briefly described below.

Test procedures:

Cells

[0219] T-175 flasks of 100% confluent HAECT-1 cells (immortalized human aortic endothelial cells) were washed with 8 ml of HBSS (HEPES buffered saline solution) and infected for four hours with 6 ml of a 1:10 dilution of Ad5-wt-hER α virus (an adenovirus transfection vector that mediates CMV promoter driven expression of human ER α) in phenol red free Endothelial Cell Basal medium (Clonetics, San Diego CA, Catalog # CC-3129) containing 0.25% bovine serum albumin (EBM-BSA). After four hours, cells were washed with EBM-BSA and incubated overnight in the same medium. Following overnight incubation, cells were washed with EBM-BSA and infected for 2 hours with 6 ml of a 1:10 dilution of Ad5-3x(NF κ B).Luc virus (Adenovirus luciferase expression vector driven by 3 repeats of the MHC NF κ B site 5' to the thymidine kinase promoter) in EBM-BSA. After two hours, cells were washed and incubated at 34°C for 1 hour. Cells were then washed, trypsinized, counted and resuspended in 95%FBS / 5% dimethylsulfoxide at a concentration of 4×10^6 cells/ml, frozen as 1 or 5 ml aliquots in cryo-vials and stored at -150°C. Control (no ER infection) cells were processed as above without Ad5-wt-hER α virus infection.

IL-6 and Creatine Kinase Assays

[0220] ER α infected HAECT-1 cells or control cells were thawed, diluted 42x in warm EBM-BSA, plated into 96-well plates at 0.1 ml/well and incubated for 4h at 34°C. Test compounds were added to the cells as 2x stocks in EBM-BSA containing 2 ng/ml IL-1 β Ad5-IL-6(1250bp).Luc virus and plates were returned to the incubator (34°C). After 15-20h, cells are lysed with 50 ul of Promega Cell Culture Lysis reagent for ~5 min at room temp on shaker. After lysing, 15ul of lysate is transferred to luminometer plates for luciferase determination. Luciferase activity is evaluated using a Perkin Elmer Victor2 1420 multilabel counter. Creatine kinase was determined from the rate of increase in A₃₄₀ following addition of 100 uL of CK assay reagent (Sigma, cat. No 47-10) to the remainder of the cell lysate.

Data Analyses

[0221] For IC₅₀ and EC₅₀ calculations, mean IL-6, luciferase or CK values versus log₁₀ of the compound concentration were fitted to a four parameter logistic equation. The IC₅₀/EC₅₀ value, 'Hill slope', upper and lower limits of the curve were iteratively estimated.

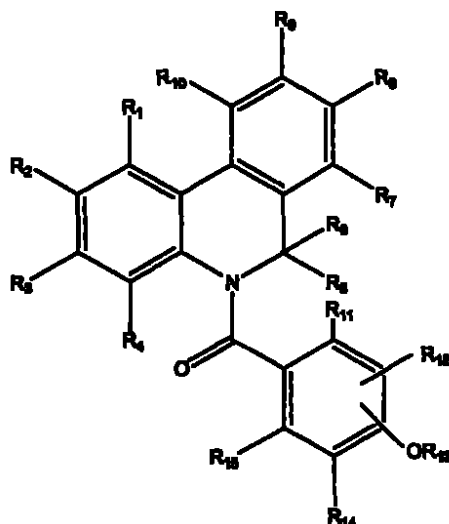
Mice

[0222] Ovariectomized C57BL/6 mice (16-20g) (Taconic) were separated into groups of 8. After 5-7 days of recuperation, the mice were fed a chow diet or an atherogenic diet (15.75% fat, 1.25% cholesterol and 0.5% sodium cholate) (Purina diet #21539). EE or test compound was administered once daily by gavage in a methylcellulose/tween vehicle (0.1 ml per mouse) for 5 weeks. At the end of the experimental period, the liver was collected and uterine wet weight was recorded.

RNA Analysis

[0223] Liver total RNA was prepared by using Trizol reagent (BRL). Estrogen and compound regulation of NF- κ B target genes were verified by real time RT-PCR using an ABI PRISM 7700 Sequence Detection System according to the manufacturer's protocol (Applied Biosystems). The data was analyzed using the Sequence Detector v1.7 software (Applied Biosystems) and normalized to GAPDH using the Applied Biosystems primer set.

[0224] The following table summarizes the results obtained in the standard pharmacological test procedures described above:



<i>Example #</i>	<i>Stereo</i>	<i>R2</i>	<i>R7</i>	<i>R9</i>	<i>R10</i>	<i>R11</i>	<i>R12</i>	<i>R13</i>	<i>IL6-luc</i> <i>IC₅₀ nM</i> <i>(%E2)</i>	<i>CK</i> <i>EC₅₀ nM</i> <i>(%E2)</i>
3	1		F	Me		OH			414 (114%)	
2	1		F	Me			OH		38 (53%)	IA
1	1		F	Me			OH		5 (100%)	IA
31	1	Cl		Me	OH		OH		3 (87%)	IA
32	1	Cl		Me	OH		OH		789 (125%)	IA
20	1		F	Et			OH		6 (95%)	IA
19	1		F	Et			OH		85 (88%)	IA
4	1		F	Me		OH			47 (102%)	IA
5	1		F	Me	F		OH		9 (97%)	IA
6	1		F	Me	F		OH		403 (90%)	IA
24	racemic	Cl		Me		OH			Not tested	
25	1	Cl		Me		OH			9 (103%)	141 (26%)
26	1	Cl		Me		OH			377 (49%)	IA
27	racemic	Cl		Me			OH		Not tested	
28	1	Cl		Me			OH		6 (120%)	69 (32%)
29	1	Cl		Me			OH		1000 (75%)	IA
7	1		F	Me	F			OH	263 (70%)	IA
8	1		F	Me	F			OH	IA	IA
33	racemic	F		Me		OH			Not tested	
34	1	F		Me		OH			11 (188%)	IA
35	1	F		Me		OH			IA	
36	racemic	F		Me			OH		Not tested	
37	1	F		Me			OH		6 (114%)	28 (20%)
38	1	F		Me			OH		IA	
39	racemic	F		Me	OH		OH		Not tested	
40	1	F		Me	OH		OH		1 (107%)	8 (20%)
41	1	F		Me	OH		OH		272 (88%)	IA
22	1		F	Et	OH		OH		2 (106%)	3 (38%)
21	1		F	Et		OH			40 (134%)	50% @ 1 μM
10	1		F	Me		F	OH		1473 (68%)	IA

<i>Example #</i>	<i>Stereo</i>	<i>R2</i>	<i>R7</i>	<i>R9</i>	<i>R10</i>	<i>R11</i>	<i>R12</i>	<i>R13</i>	<i>IL6-luc</i> <i>IC₅₀ nM</i> <i>(%E2)</i>	<i>CK</i> <i>EC₅₀ nM</i> <i>(%E2)</i>
9	1		F	Me		F	OH		31 (81%)	IA
23	racemic		F	Et	F		OH		1 (107%)	IA
17	1		F	Me		O-	OH		364	IA

						Me			(113%)	
18	1		F	Me		O-Me	OH		IA	
11	1		F	Me		OH	Cl		271 (107%)	307(-29%)
12	1		F	Me		OH	Cl		IA	
13	1		F	Me		Br	OH		51 (102%)	IA
14	1		F	Me		Br	OH		IA	
15	1		F	Me	Br			OH	301 (76%)	IA
16	1		F	Me	Br			OH	832 (91%)	IA
42	racemic	F	F	Me			OH		4.5 (95%)	90 (37%)
43	1	F	F	Me			OH		1.5 (147%)	
44	1	F	F	Me			OH		130 (132%)	

If not otherwise indicated, the R₁-R₁₄ substituent represents hydrogen.

[0225] E2 inhibits NF- κ B and IL-6 expression in Ad5-wt-ER infected HAECT-1 cells with an IC₅₀ value around 1 nM and induces expression of creatine kinase in the same cells with similar potency (5.8 nM). In contrast, preferred compounds of the present invention potently and efficaciously inhibit NF- κ B and IL-6 expression in Ad5-wt-ER infected HAECT-1 cells but do not induce CK expression in an ER-dependent manner. The ability of preferred compounds of the present invention to inhibit NF- κ B and IL-6 expression without inducing CK activity demonstrates anti-inflammatory activity in the absence of classic estrogenic activity.

[0226] Based on the results obtained in the standard pharmacological test procedures, the compounds of this invention are selective anti-inflammatory compounds useful for the treatment and prevention of chronic inflammatory diseases without stimulating uterine and breast cell proliferation as found with classic estrogens.

[0227] Example 47: The processes detailed below are illustrative of processes for evaluating the compounds of the present invention.

Evaluation of test compound using an ERE-reporter test procedure in MCF-7 breast cancer cells

[0228] Stock solutions of test compounds (usually 0.1 M) are prepared in DMSO and then diluted 10 to 100-fold with DMSO to make working solutions of 1 or 10 mM. The DMSO stocks are stored at either 4 °C (0.1 M) or -20 °C (<0.1M). MCF-7 cells are

passaged twice a week with growth medium [D-MEM/F-12 medium containing 10% (v/v) heat-inactivated fetal bovine serum, 1% (v/v) Penicillin-Streptomycin, and 2 mM glutaMax-1]. The cells are maintained in vented flasks at 37 °C inside a 5% CO₂/95% humidified air incubator. One day prior to treatment, the cells are plated with growth medium at 25,000 cells/well into 96 well plates and incubated at 37 °C overnight.

[0229] The cells are infected for 2 hr at 37 °C with 50 µl/well of a 1:10 dilution of adenovirus 5-ERE-tk-luciferase in experimental medium [phenol red-free D-MEM/F-12 medium containing 10% (v/v) heat-inactivated charcoal-stripped fetal bovine serum, 1% (v/v) Penicillin-Streptomycin, 2 mM glutaMax-1, 1 mM sodium pyruvate]. The wells are then washed once with 150 µl of experimental medium. Finally, the cells are treated for 24 hr at 37 °C in replicates of 8 wells/treatment with 150 µl/well of vehicle ($\leq 0.1\%$ v/v DMSO) or compound that is diluted ≥ 1000 -fold into experimental medium.

[0230] Initial screening of test compounds is done at a single dose of 1 µM that is tested alone (estrogen receptor agonist mode) or in combination with 0.1 nM 17β-estradiol (EC₈₀; estrogen receptor antagonist mode). Each 96 well plate also includes a vehicle control group (0.1% v/v DMSO) and an estrogen receptor agonist control group (either 0.1 or 1 nM 17β-estradiol). Dose-response experiments are performed in either the estrogen receptor agonist and/or estrogen receptor antagonist modes on active compounds in log increases from 10⁻¹⁴ to 10⁻⁵ M. From these dose-response curves, EC₅₀ and IC₅₀ values, respectively, are generated. The final well in each treatment group contains 5 µl of 3 x 10⁻⁵ M ICI-182,780 (10⁻⁶ M final concentration) as an estrogen receptor antagonist control.

[0231] After treatment, the cells are lysed on a shaker for 15 min with 25 µl/well of 1X cell culture lysis reagent (Promega Corporation). The cell lysates (20 µl) are transferred to a 96 well luminometer plate, and luciferase activity is measured in a MicroLumat LB 96 P luminometer (EG & G Berthold) using 100 µl/well of luciferase substrate (Promega Corporation). Prior to the injection of substrate, a 1 second background measurement is made for each well. Following the injection of substrate, luciferase activity is measured for 10 seconds after a 1 second delay. The data are transferred from the luminometer to a Macintosh personal computer and analyzed using

the JMP software (SAS Institute); this program subtracts the background reading from the luciferase measurement for each well and then determines the mean and standard deviation of each treatment.

[0232] The luciferase data are transformed by logarithms, and the Huber M-estimator is used to down-weight the outlying transformed observations. The JMP software is used to analyze the transformed and weighted data for one-way ANOVA (Dunnett's test). The compound treatments are compared to the vehicle control results in the estrogen receptor agonist mode, or the positive estrogen receptor agonist control results (0.1 nM 17 β -estradiol) in the estrogen receptor antagonist mode. For the initial single dose experiment, if the compound treatment results are significantly different from the appropriate control ($p < 0.05$), then the results are reported as the percent relative to the 17 β -estradiol control [i.e., ((compound - vehicle control)/(17 β -estradiol control - vehicle control)) x 100]. The JMP software is also used to determine the EC₅₀ and/or IC₅₀ values from the non-linear dose-response curves.

Evaluation of uterotrophic activity

[0233] Uterotrophic activity of a test compound can be measured according to the following standard pharmacological test procedures.

[0234] Procedure 1: Sexually immature (18 days of age) Sprague-Dawley rats are obtained from Taconic and provided unrestricted access to a casein-based diet (Purina Mills 5K96C) and water. On day 19, 20 and 21 the rats are dosed subcutaneously with 17 α -ethinyl-17 β -estradiol (0.06 μ g/rat/day), test compound or vehicle (50% DMSO/50% Dulbecco's PBS). To assess estrogen receptor antagonist, compounds are coadministered with 17 α -ethinyl-17 β -estradiol (0.06 μ g/rat/day). There are six rats/group and they are euthanized approximately 24 hours after the last injection by CO₂ asphyxiation and pneumothorax. Uteri are removed and weighed after trimming associated fat and expressing any internal fluid. A tissue sample can also be snap frozen for analysis of gene expression (e.g. complement factor 3 mRNA).

[0235] Procedure 2: Sexually immature (18 days of age) 129 SvEv mice are obtained from Taconic and provided unrestricted access to a casein-based diet (Purina Mills 5K96C) and water. On day 22, 23, 24 and 25 the mice are dosed subcutaneously with compound or vehicle (corn oil). There are six mice/group and they are euthanized

approximately 6 hours after the last injection by CO₂ asphyxiation and pneumothorax. Uteri are removed and weighed after trimming associated fat and expressing any internal fluid.

Evaluation of osteoporosis and lipid modulation (cardioprotection)

[0236] Female Sprague-Dawley rats, ovariectomized or sham operated, are obtained 1 day after surgery from Taconic Farms (weight range 240 - 275 g). They are housed 3 or 4 rats/cage in a room on a 12/12 (light/dark) schedule and provided with food (Purina 5K96C rat chow) and water ad libitum. Treatment for all studies begin 1 day after arrival and rats are dosed 7 days per week as indicated for 6 weeks. A group of age matched sham operated rats not receiving any treatment serve as an intact, estrogen replete control group for each study.

[0237] All test compounds are prepared in a vehicle of 50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ) / 1x Dulbecco's phosphate saline (GibcoBRL, Grand Island, NY) at defined concentrations so that the treatment volume is 0.1 mL/100 g body weight. 17 β -estradiol is dissolved in corn oil (20 μ g/mL) and delivered subcutaneously, 0.1 mL/rat. All dosages are adjusted at three week intervals according to group mean body weight measurements, and given subcutaneously.

[0238] Five weeks after the initiation of treatment and one week prior to the termination of the study, each rat is evaluated for bone mineral density (BMD). The total and trabecular density of the proximal tibia are evaluated in anesthetized rats using an XCT-960M (pQCT; Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany). The measurements are performed as follows: Fifteen minutes prior to scanning, each rat is anesthetized with an intraperitoneal injection of 45 mg/kg ketamine, 8.5 mg/kg xylazine, and 1.5 mg/kg acepromazine.

[0239] The right hind limb is passed through a polycarbonate tube with a diameter of 25 mm and taped to an acrylic frame with the ankle joint at a 90° angle and the knee joint at 180°. The polycarbonate tube is affixed to a sliding platform that maintains it perpendicular to the aperture of the pQCT. The platform is adjusted so that the distal end of the femur and the proximal end of the tibia is in the scanning field. A two dimensional scout view is run for a length of 10 mm and a line resolution of 0.2 mm. After the scout view is displayed on the monitor, the proximal end of the tibia is located.

6
93

The pQCT scan is initiated 3.4 mm distal from this point. The pQCT scan is 1 mm thick, has a voxel (three dimensional pixel) size of 0.140 mm, and consists of 145 projections through the slice.

[0240] After the pQCT scan is completed, the image is displayed on the monitor. A region of interest including the tibia but excluding the fibula is outlined. The soft tissue is mathematically removed using an iterative algorithm. The density of the remaining bone (total density) is reported in mg/cm^3 . The outer 55% of the bone is mathematically peeled away in a concentric spiral. The density of the remaining bone (Trabecular density) is reported in mg/cm^3 .

[0241] One week after BMD evaluation the rats are euthanized by CO_2 asphyxiation and pneumothorax, and blood is collected for cholesterol determination. The uteri are also removed and the weighed after trimming associated fat and expressing any luminal fluid. Total cholesterol is determined using a Boehringer-Mannheim Hitachi 911 clinical analyzer using the Cholesterol/HP kit. Statistics were compared using one-way analysis of variance with Dunnet's test.

Evaluation of antioxidant activity

[0242] Porcine aortas are obtained from an abattoir, washed, transported in chilled PBS, and aortic endothelial cells are harvested. To harvest the cells, the intercostal vessels of the aorta are tied off and one end of the aorta clamped. Fresh, sterile filtered, 0.2% collagenase (Sigma Type I) is placed in the vessel and the other end of the vessel then clamped to form a closed system. The aorta is incubated at 37°C for 15-20 minutes, after which the collagenase solution is collected and centrifuged for 5 minutes at $2000 \times g$. Each pellet is suspended in 7 mL of endothelial cell culture medium consisting of phenol red free DMEM/Ham's F12 media supplemented with charcoal stripped FBS (5%), NuSerum (5%), L-glutamine (4 mM), penicillin-streptomycin (1000 U/ml, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and gentamycin (75 $\mu\text{g}/\text{ml}$), seeded in 100 mm petri dish and incubated at 37°C in 5% CO_2 . After 20 minutes, the cells are rinsed with PBS and fresh medium added, this was repeated again at 24 hours. The cells are confluent after approximately 1 week. The endothelial cells are routinely fed twice a week and, when confluent, trypsinized and seeded at a 1:7 ratio. Cell mediated oxidation of 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LDL is allowed to proceed in the presence of the compound to be evaluated (5 μM) for 4 hours at

37 °C. Results are expressed as the percent inhibition of the oxidative process as measured by the TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) method for analysis of free aldehydes (Yagi, Biochemical Medicine 15: 212-6 (1976)).

Progesterone receptor mRNA regulation standard pharmacological test procedure

[0243] This test procedure can be used to evaluate the estrogenic or antiestrogenic activity of compounds from this invention (Shughrue, et al., Endocrinology 138: 5476-5484 (1997)).

Rat Hot Flush Test Procedure

[0244] The effect of test compounds on hot flushes can be evaluated in a standard pharmacological test procedure which measures the ability of a test compound to blunt the increase in tail skin temperature which occurs as morphine-addicted rats are acutely withdrawn from the drug using naloxone (Merchenthaler, et al., Maturitas 30: 307-16 (1998)). It can also be used to detect estrogen receptor antagonist activity by co-dosing test compound with the reference estrogen.

Evaluation of vasomotor function in isolated rat aortic rings

[0245] Sprague-Dawley rats (240-260 grams) are divided into 4 groups:

1. Normal non-ovariectomized (intact)
2. Ovariectomized (ovex) vehicle treated
3. Ovariectomized 17 β -estradiol treated (1 mg/kg/day)
4. Ovariectomized animals treated with test compound (various doses).

[0246] Animals are ovariectomized approximately 3 weeks prior to treatment. Each animal receives either 17- β estradiol sulfate (1 mg/kg/day) or test compound suspended in distilled, deionized water with 1% tween-80 by gastric gavage. Vehicle treated animals received an appropriate volume of the vehicle used in the drug treated groups.

[0247] Animals are euthanized by CO₂ inhalation and exsanguination. Thoracic aortae are rapidly removed and placed in 37 °C physiological solution with the following composition (mM): NaCl (54.7), KCl (5.0), NaHCO₃ (25.0), MgCl₂ 2H₂O (2.5), D-glucose (11.8) and CaCl₂ (0.2) gassed with CO₂-O₂, 95%/5% for a final pH of 7.4. The adventitia is removed from the outer surface and the vessel is cut into 2-3 mm wide rings.

0 031
95

Rings are suspended in a 10 mL tissue bath with one end attached to the bottom of the bath and the other to a force transducer. A resting tension of 1 gram is placed on the rings. Rings are equilibrated for 1 hour, signals are acquired and analyzed.

[0248] After equilibration, the rings are exposed to increasing concentrations of phenylephrine (10^{-8} to 10^{-4} M) and the tension recorded. Baths are then rinsed 3 times with fresh buffer. After washout, 200 mM L-NAME is added to the tissue bath and equilibrated for 30 minutes. The phenylephrine concentration response curve is then repeated.

Evaluation of cardioprotective activity

[0249] Apolipoprotein E-deficient C57/B1J (apo E KO) mice are obtained from Taconic Farms. All animal procedures are performed under strict compliance to IACUC guidelines. Ovariectomized female apo E KO mice, 4-7 weeks of age, are housed in shoe-box cages and were allowed free access to food and water. The animals are randomized by weight into groups (n=12-15 mice per group). The animals are dosed with test compounds or estrogen (17β -estradiol sulfate at 1 mg/kg/day) in the diet using a Precise-dosing Protocol, where the amount of diet consumed is measured weekly, and the dose adjusted accordingly, based on animal weight. The diet used is a Western-style diet (57U5) that is prepared by Purina and contains 0.50% cholesterol, 20% lard and 25 IU/KG Vitamin E. The animals are dosed/fed using this paradigm for a period of 12 weeks. Control animals are fed the Western-style diet and receive no compound. At the end of the study period, the animals are euthanized and plasma samples obtained. The hearts are perfused in situ, first with saline and then with neutral buffered 10% formalin solution.

[0250] For the determination of plasma lipids and lipoproteins, total cholesterol and triglycerides are determined using enzymatic methods with commercially available kits from Boehringer Mannheim and Wako Biochemicals, respectively and analyzed using the Boehringer Mannheim Hitachi 911 Analyzer. Separation and quantification of plasma lipoproteins were performed using FPLC size fractionation. Briefly, 50-100 mL of serum is filtered and injected into Superose 12 and Superose 6 columns connected in series and eluted at a constant flow rate with 1 mM sodium EDTA and 0.15 M NaCl. Areas of each curve representing VLDL, LDL and HDL are integrated using Waters

0 0.8?
9/6

Millennium™ software, and each lipoprotein fraction is quantified by multiplying the Total Cholesterol value by the relative percent area of each respective chromatogram peak.

[0251] For the quantification of aortic atherosclerosis, the aortas are carefully isolated and placed in formalin fixative for 48-72 hours before handling. Atherosclerotic lesions are identified using Oil Red O staining. The vessels are briefly destained, and then imaged using a Nikon SMU800 microscope fitted with a Sony 3CCD video camera system in concert with IMAQ Configuration Utility (National Instrument) as the image capturing software. The lesions are quantified en face along the aortic arch using a custom threshold utility software package (Coleman Technologies). Automated lesion assessment is performed on the vessels using the threshold function of the program, specifically on the region contained within the aortic arch from the proximal edge of the brachio-cephalic trunk to the distal edge of the left subclavian artery. Aortic atherosclerosis data are expressed as percent lesion involvement strictly within this defined luminal area.

Evaluation of cognition enhancement

[0252] Ovariectomized rats (n=50) are habituated to an 8-arm radial arm maze for 10-min periods on each of 5 consecutive days. Animals are water-deprived prior to habituation and testing. A 100 µL aliquot of water placed at the ends of each arm serves as reinforcement. Acquisition of a win-shift task in the radial arm maze is accomplished by allowing the animal to have access to one baited arm. After drinking, the animal exits the arm and re-enters the central compartment, where it now has access to the previously visited arm or to a novel arm. A correct response is recorded when the animal chooses to enter a novel arm. Each animal is given 5 trials per day for 3 days. After the last acquisition trial, the animals are assigned to one of the following 4 groups:

1. Negative controls: injected with 10% DMSO/ sesame oil vehicle once daily for 6 days (1 mL/kg, SC)
2. Positive controls: injected with 17β-estradiol benzoate for 2 days and tested 4 days after the second injection (17β-estradiol benzoate at 10 µg/0.1 mL per rat)
3. Estradiol: 17β-estradiol will be injected daily for 6 days (20 µg/kg, SC)
4. Test compound: injected daily for 6 days (doses vary).

[0253] All injections will begin after testing on the last day of acquisition. The last injection for groups 1, 3, and 4 will take place 2 hours before testing for working memory.

[0254] The test for working memory is a delayed non-matching-to-sample task (DNMS) utilizing delays of 15, 30, or 60 seconds. This task is a variation of the acquisition task in which the rat is placed in the central arena and allowed to enter one arm as before. A second arm is opened once the rat traverses halfway down the first arm, and again the rat is required to choose this arm. When it has traveled halfway down this second arm, both doors are closed and the delay is instituted. Once the delay has expired, both of the original two doors, and a third novel door, are opened simultaneously. A correct response is recorded when the animal travels halfway down the third, novel arm. An incorrect response is recorded when the animal travels halfway down either the first or second arms. Each animal will receive 5 trials at each of the three delay intervals for a total of 15 trials per subject.

Evaluation of effect on pleurisy

[0255] The ability to reduce the symptoms of experimentally-induced pleurisy in rats can be evaluated according to the procedure of Cuzzocrea (Endocrinology 141: 1455-63 (2000)).

Evaluation of protection against glutamate-induced cytotoxicity (neuroprotection)

[0256] The neuroprotective activity of compounds of this invention can be evaluated in an in vitro standard pharmacological test procedure using glutamate challenge (Zaulyanov, et al., Cellular & Molecular Neurobiology 19: 705-18 (1999); Prokai, et al., Journal of Medicinal Chemistry 44: 110-4 (2001)).

Evaluation in the Mammary End Bud Test Procedure

[0257] Estrogens are required for full ductal elongation and branching of the mammary ducts, and the subsequent development of lobulo-alveolar end buds under the influence of progesterone. In this test procedure, the mammotrophic activity of selected compounds of the invention can be evaluated according to the following standard

pharmacological test procedure. Twenty-eight day old Sprague-Dawley rats (Taconic Farms, Germantown, NY) are ovariectomized and rested for nine days. Animals are housed under a 12-hour light/dark cycle, fed a casein-based Purina Laboratory Rodent Diet 5K96 (Purina, Richmond, IN) and allowed free access to water. Rats were then dosed subcutaneously for six days with vehicle (50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ) / 50% 1x Dulbecco's Phosphate buffered saline (GibcoBRL, Grand Island, NY), 17 β -estradiol (0.1 mg/kg) or test compound (20 mg/kg). For the final three days, rats are also dosed subcutaneously with progesterone (30 mg/kg). On the seventh day, rats are euthanised and a mammary fat pad excised. This fat pad is analyzed for casein kinase II mRNA as a marker of end bud proliferation. Casein kinase II mRNA is analyzed by real-time RT-PCR. Briefly, RNA is isolated following Trizol (GibcoBRL, Grand Island, NY) according to the manufacture's directions, Samples are treated with DNase I using DNA-free kit (Ambion), and casein kinase II mRNA levels are measured by real-time RT-PCR using the Taqman Gold procedure (PE Applied Biosystems). A total of 50 ng of RNA is analyzed in triplicate using casein kinase II specific primer pair (5' primer, CACACGGATGGCGCATACT (SEQ ID NO. 1); 3' primer, CTCGGGATGCACCATGAAG (SEQ ID NO. 2)) and customized probe (TAMRA-CGGCACTGGTTTCCCTCACATGCT-FAM (SEQ ID NO. 3)). Casein kinase II mRNA levels are normalized to 18s ribosomal RNA contained within each sample reaction using primers and probe supplied by PE Applied Biosystems.

Evaluation in the HLA Rat Standard Pharmacological Test Procedure for inflammatory bowel disease

[0258] Representative compounds can be evaluated in the HLA rat standard pharmacological test procedure which emulates inflammatory bowel disease in humans. The following briefly describes the procedure used and results obtained. Male HLA-B27 rats are obtained from Taconic and provided unrestricted access to food (PMI Lab diet 5001) and water. Rats are dosed subcutaneously once per day with either vehicle (50% DMSO / 50% 1x Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) or test compound (0.1 to 10

0 085
99

mg/kg) for at least one week. Stool quality is observed daily and graded according to the following scale: Diarrhea = 3; soft stool = 2; normal stool = 1. At the end of the study, serum is collected and stored at -70 °C. A section of colon is prepared for histological analysis and an additional segment is analyzed for myeloperoxidase activity.

[0259] For histological analysis, colonic tissue is immersed in 10% neutral buffered formalin. Each specimen of colon is separated into four samples for evaluation. The formalin-fixed tissues are processed in a Tissue Tek vacuum infiltration processor (Miles, Inc; West Haven, Connecticut) for paraffin embedding. The samples are sectioned at 5 µm and then stained with hematoxylin and eosin (H&E) for blinded histologic evaluations using a scale modified after Boughton-Smith. After the scores are completed the samples are unblinded, and data are tabulated and analyzed by ANOVA linear modeling with multiple mean comparisons. Sections of colonic tissue are evaluated for several disease indicators and given relative scores.

Evaluation in three models of arthritis

[0260] *Lewis rat assay of adjuvant-induced arthritis.* Sixty, female, 12 weeks old, Lewis rats are housed according to standard facility operating procedures. They receive a standard regimen of food and water ad libitum. Each animal is identified by a cage card indicating the project group and animal number. Each rat number is marked by indelible ink marker on the tail. At least 10-21 days before study they are anesthetized and ovariectomized by standard aseptic surgical techniques.

[0261] Freund's Adjuvant-Complete (Sigma Immuno Chemicals, St. Louis, MO) is used to induce arthritis, each mL containing 1 mg Mycobacterium tuberculosis heat killed and dried, 0.85 mL mineral oil and 0.15 mL mannide monooleate Lot No. 084H8800.

[0262] The following are examples of two test procedures. Inhibition test procedure: Thirty rats are injected intradermally with 0.1 mL of Freund's Adjuvant-Complete at the base of the tail. The animals are randomized to four groups, each group containing six rats. Each day, the groups receive vehicle (50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ) / 1x Dulbecco's phosphate saline (GibcoBRL, Grand Island, NY)) or test compound (0.1-10 mg/kg, administered subcutaneously). All rats begin treatment on Day 1.

U 6:3
100

[0263] Treatment test procedure: Thirty rats are injected intradermally with 0.1 mL of Freund's Adjuvant-Complete at the base of the tail. The animals are randomized to four groups, each group containing six rats. Each day, the groups receive vehicle (50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ) / 1x Dulbecco's phosphate saline (GibcoBRL, Grand Island, NY)) or test compound (0.1-10 mg/kg, administered subcutaneously). All rats begin treatment on Day 8 after adjuvant injection.

[0264] Statistical analysis is performed using Abacus Concepts Super ANOVA. (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA). All of the parameters of interest are subjected to Analysis of Variance with Duncan's new multiple range post hoc testing between groups. Data are expressed throughout as mean $\pm$ standard deviation (SD), and differences are deemed significant if $p < 0.05$.

[0265] The degree of arthritis severity is monitored daily in terms of the following disease indices: Hindpaw erythema, hindpaw swelling, tenderness of the joints, and movements and posture. An integer scale of 0 to 3 is used to quantify the level of erythema (0= normal paw, 1= mild erythema, 2= moderate erythema, 3= severe erythema) and swelling (0=normal paw, 1=mild swelling, 2= moderate swelling, 3= severe swelling of the hind paw). The maximal score per day is 12.

[0266] At the end of the study the rats are euthanized with CO₂, hindlimbs removed at necropsy and fixed in 10% buffered formalin, and the tarsal joints decalcified and embedded in paraffin. Histologic sections are stained with Hematoxylin and Eosin or Saffranin O - Fast Green stain.

[0267] Slides are coded so that the examiner is blinded to the treatment groups. Synovial tissue from tarsal joints is evaluated based on synovial hyperplasia, inflammatory cell infiltration, and pannus formation (Poole and Coombs, International Archives of Allergy & Applied Immunology 54: 97-113 (1977)) as outlined below.

Category	Grade
1. Synovial lining cells	
a. No change	0
b. Cells enlarged, slightly thickened	1
c. Cells enlarged, increase in numbers, moderately thickened. No villus present	2
d. Cells enlarged, thickened. Villus present	3
2. Fibroplasia	
a. No change	0

b. Fibroplasia present under lining cells	1
c. Small areas of areolar tissue replaced by fibrous tissue	2
d. Replacement of areolar tissue by fibrous tissue	3
3. Inflammatory cells	
a. Occasionally seen, scattered throughout section	0
b. Cells present in small numbers in or just under lining cell layer and/or around blood vessels.	1
c. Small focal collection of cells may be present	2
d. Large numbers of cells present in capsule and in or under lining cell layers. Large foci often seen.	3
4. Pannus	
a. Not detectable	0
b. Detectable	1

[0268] In addition, articular cartilage and bone is evaluated using Mankin's histological grading system (Mankin, et al., Journal of Bone & Joint Surgery - American Volume 53: 523-37 (1971)) as shown below.

Category	Grade
1. Structure	
a. Normal	0
b. Surface irregularity	1
c. Pannus and surface irregularity	2
d. Clefts to transitional zone	3
e. Clefts to radial zone	4
f. Clefts to calcified zone	5
g. Complete disorganization	6
2. Cells	
a. Normal	0
b. Diffuse hypercellularity	1
c. Cloning	2
d. Hypocellularity	3
3. Safranin-O staining	
a. Normal	0
b. Slight reduction	1
c. Modest reduction	2
d. Severe reduction	3
e. No dye noted	4
4. Tidemark integrity	
a. Intact	0
b. Crossed by blood vessels	1

Evaluation in the HLA-B27 Rat model of arthritis.

[0269] Representative compounds are evaluated in the HLA-B27 rat standard pharmacological test procedure which emulates arthritis in humans. The following briefly describes the procedure used. Male HLA-B27 rats are obtained from Taconic and provided unrestricted access to a food (PMI Lab diet 5001) and water. Rats are dosed

subcutaneously once per day with either vehicle (50% DMSO / 50% 1x Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) or test compound (0.1 to 10 mg/kg) for at least one week. Joint scores and histology are evaluated as described above for the Lewis rat model of adjuvant-induced arthritis.

Evaluation in the collagen induced arthritis models.

[0270] Compounds are evaluated in BALB/c mice, 6-8 weeks of age, in which arthritis is induced by monoclonal antibodies raised against type II collagen, plus lipopolysaccharide (LPS). The animals are administered intravenously with a combination of 4 different mAbs totaling 4 mg/mouse on day 0, and followed by intravenous 25 µg of LPS 72 hours later (day 3). From day 3, one hour after LPS application, tested compounds are give orally once daily for 15 days. For each animal, increase in volume of both hind paws is measured using a plethysmometer with water cell (12 mm diameter) on days 0, 5, 7, 10, 14 and 17. Percent inhibition of increase in volume is calculated.

Evaluation in vivo models of carcinogenesis

[0271] The ability of compounds of this invention to treat and inhibit various malignancies or hyperproliferic disorders can be evaluated in standard pharmacological test procedures that are readily available in the literature, and include the following two procedures.

[0272] *Breast cancer.* Athymic nu/nu (nude) mice are obtained ovariectomized from Charles River Laboratories (Wilmington, MA). One day prior to tumor cell injection, animals are implanted with time-release pellets containing 0.36-1.7 mg 17β-estradiol (60 or 90 day release, Innovative Research of America, Sarasota, FL) or a placebo. The pellet is introduced subcutaneously into the intrascapular region using a 10-gauge precision trochar. Subsequently, mice are injected subcutaneously into the breast tissue with either 1x10⁷ MCF-7 cells or 1x10⁷ BG-1 cells. The cells are mixed with an equal volume of matrigel, a basement membrane matrix preparation to enhance tumor establishment. Test compounds can be evaluated either by dosing one day after tumor cell implantation (inhibition regimen) or after tumors have reached a certain size (treatment regimen). Compounds are administered either intraperitoneally or orally in a

vehicle of 1% tween-80 in saline each day. Tumor size is evaluated every three or seven days.

[0273] *Colon cancer.* The ability to treat or inhibit colon cancer can be evaluated in the test procedure of Smirnoff (Oncology Research 11: 255-64 (1999)).

Evaluation of neuroprotection in two in vivo test procedures

[0274] *Transient global ischemia in the Mongolian gerbil.* The effect of test compounds on preventing or treating brain injury in response to oxygen deprivation/reperfusion can be measured using the following test procedure.

[0275] Female Mongolian gerbils (60-80 g; Charles River Laboratories, Kingston, NY) are housed in the Wyeth-Ayerst animal care facility (AAALAC certified) with a 12-hour light, 12-hour dark photoperiod and free access to tap water and a low-estrogen casein diet (Purina; Richmond, IN). After acclimation (3-5 days), gerbils are anesthetized with isoflurane (2-3% mixture with O₂), ovariectomized (Day 0). Beginning the following morning (Day 1), gerbils are treated subcutaneously each day with either vehicle (10% ETOH/corn oil), 17 β -estradiol (1 mg/kg) or an experimental compound (0.1-20 mg/kg). On Day 6, gerbils (n=4-5/group) are anesthetized with isoflurane, the common carotid arteries visualized via a mid-line neck incision and both arteries simultaneously occluded for 5 minutes with non-traumatic micro aneurysm clips. After occlusion, the clips are removed to allow cerebral reperfusion and the neck incision closed with wound clips. All animals are fasted overnight prior to the global ischemia surgery, a step that facilitates consistent ischemic injury. On Day 12, gerbils are exposed to a lethal dose of CO₂, and the brains frozen on dry ice and stored at -80 °C.

[0276] The degree of neuronal protection is evaluated by in situ hybridization analysis of neurogranin mRNA. Briefly, 20 μ m coronal cryostat sections are collected on gelatin-coated slides, dried and stored at -80 °C. At the time of processing, the desiccated slide boxes are warmed to room temperature, the slides postfixes in 4% paraformaldehyde, treated with acetic anhydride and then delipidated and dehydrated with chloroform and ethanol. Processed section-mounted slides are then hybridized with 200 μ l (6x10⁶ DPM/ slide) of an antisense or sense (control) riboprobe for Neurogranin (³⁵S-UTP-labeled NG-241; bases 99-340). in a 50% formamide hybridization mix and incubated overnight at 55 °C in a humidified slide chamber without coverslipping. The

0 107
104

following morning, the slides are collected in racks, immersed in 2xSSC (0.3 M NaCl, 0.03 M sodium citrate; pH 7.0) / 10 mM DTT, treated with RNase A (20 µg/ml) and washed (2 x 30 min) at 67 °C in 0.1x SSC to remove nonspecific label. After dehydration, the slides are exposed to BioMax (BMR-1; Kodak) X-ray film overnight.

[0277] The level of neurogranin hybridization signal is used to quantitatively assess the degree of neuronal loss in the CA1 region after injury and to evaluate the efficacy of 17β-estradiol and experimental compounds. Neurogranin mRNA is selected for these studies because it is highly expressed in the hippocampal neurons including CA1, but absent in glia and other cell types present in this brain region. Therefore, measurement of the amount of neurogranin mRNA present represents surviving neurons. Relative optical density measurements of neurogranin hybridization signal are obtained from film autoradiograms with a computer based image analysis system (C-Imaging Inc., Pittsburgh, PA). The results from 6 sections (40 µm apart) per animal are averaged and statistically evaluated. Numerical values are reported as the mean ± SEM. One-way analysis of variance is used to test for differences in the level of neurogranin mRNA and all statements of non-difference in the results section imply that $p > 0.05$.

[0278] *Middle cerebral artery occlusion in mice.* Neuroprotection can be evaluated according to the test procedures described by Dubal (see, Dubal, et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98: 1952-1957 (2001), Dubal, et al., Journal of Neuroscience 19: 6385-6393 (1999)).

Ovulation inhibition standard pharmacological test procedure

[0279] The test procedure is used to determine whether test compounds can inhibit or change the timing of ovulation. It can also be used to determine the number of oocytes ovulated [Lundeen, et al., J Steroid Biochem Mol Biol 78: 137-143 (2001)].

Transplantation Rejection

[0280] To test the ability of the test compounds to prevent transplant rejection. Compounds can be tested in animal models of heart transplantation (Stetson et al. Circulation 104:676-682 (2001) or transplant atherosclerosis (Deitrich et al. Arterioscler. Thromb. Vasc Biol. 20:343-352 (2000), Lou et al., Circulation 94:3355-3361 (1996).

Prevention of Restenosis

[0281] The test procedure is used to determine whether test compounds can inhibit vascular smooth muscle cell proliferation after carotid artery injury similar to what occurs after balloon angioplasty. The test compounds can be tested in animal models previously described (Karas et al. Circ Res. 89:534-539 (2001), Cerek et al. Atherosclerosis 131:59-66 (1997).

Treatment of Myocardial Infarction

[0282] Test compounds can be tested in animal models of ischemia/reperfusion to determine whether they would inhibit cell death occurring during a myocardial infarction. The compounds can be tested in models described previously (Delyani et al. J Mol & Cell Cardiology 28:1001-1008 (1996), Izumi et al. J Clin Invest. 108:203-213 (2001) & Chandrasekar et al. Circulation 103:2296-2302 (2001)).

Treatment for Myocarditis and Congestive Heart Failure

[0283] Test compounds can be tested in models of heart failure to determine whether compounds could be an effective therapy and improve cardiac function. Compounds can be tested in animals as described previously (Yokoseki et al. Circ Res. 89:1-9 (2001), Wallen et al. Hypertension 36:774-779 (2000) & Toshiaki et al. Circulation 104:1094-1103 (2001)).

Treatment for Diabetes

[0284] Test compounds can be tested in models of diabetes to determine their effect on reversal of obesity and diet-induced insulin resistance. Compounds can be tested in animal models as previously described (Yuan et al. Science 293:1673-1677 (2001).

Treatment for Asthma

[0285] *Pulmonary Inflammation Model* Mice are sensitized with OVA emulsified in alum on days 0 and 14 (ip injection). On days 28 and 29, mice are challenged with an aerosol of OVA for 20 min (1%-5% OVA) and then on Day 30 the animals are sacrificed and harvest BAL and/or lung tissue for analysis of pulmonary inflammation.

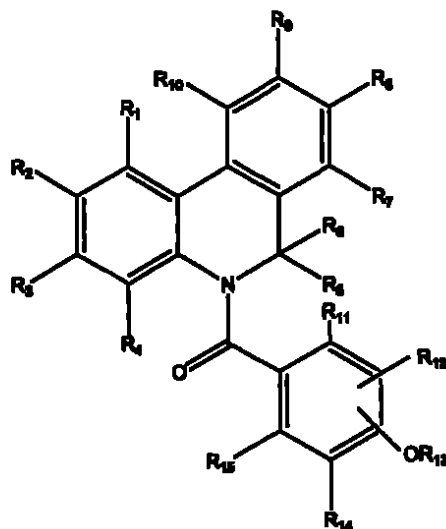
[0286] *Airway Hyperresponsiveness*. This model is similar to that described above however animals are challenged on 3 consecutive days with an aerosol of OVA

and airway hyperresponsiveness is measured 48 h after the last challenge. BAL can also be taken at this stage if required.

[0287] To look more directly at the effects of mast cells in conjunction with ER, a passive cutaneous anaphylaxis model in which IgE is injected into the ear and then 24 hours later DNP-HSA iv is injected DNP-HSA iv can be used. Ear thickness and an early and late phase reaction are measured. Tissues are fixed in K2, embedded in Epoxy resin and cut into 1µm sections. These can be stained for mast cells and the degree of mast cell degranulation can be quantified.

0 3/3
109**What is Claimed:**

1. A compound of Formula 1:

**Formula 1**

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof
wherein

R_1 , R_2 , R_3 , and R_4 , are, independently, hydrogen, optionally substituted lower alkyl, halogen, or optionally substituted aryl;

R_7 , R_8 , R_9 , and R_{10} , are, independently, hydrogen, optionally substituted lower alkyl or halogen;

R_{11} , R_{12} , R_{14} , and R_{15} are, independently, hydrogen, hydroxy, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted alkoxy, or halogen;

one of R_5 and R_6 is independently, hydrogen and the other is optionally substituted lower alkyl;

R_{13} is hydrogen, $-(C=O)R_{16}$, $-S(O)_2R_{17}$, $-S(O)_2N(R_{18})(R_{19})$, or D-glucuronidate;

R_{16} is optionally substituted alkyl, optionally substituted arylalkyl or optionally substituted aryl;

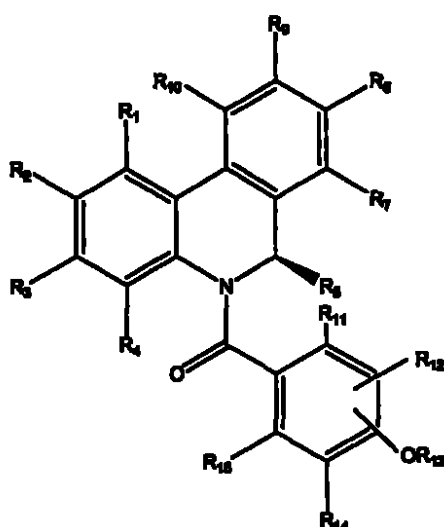
108

R_{17} is optionally substituted alkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted cycloalkyl, optionally substituted alkenyl, optionally substituted cycloalkenyl, or optionally substituted alkynyl;

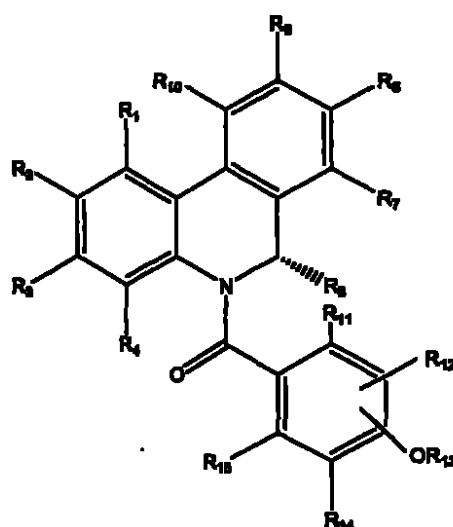
R_{18} and R_{19} are, independently, hydrogen, optionally substituted alkyl, optionally substituted alkenyl, optionally substituted alkynyl, optionally substituted cycloalkyl, monofluoroalkyl, perfluoroalkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted arylalkyl, optionally substituted cycloalkenyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroarylalkyl, optionally substituted hydroxy-(C_2-C_6)alkyl, optionally substituted alkoxyalkyl, optionally substituted alkylthioalkyl, carbonyl, optionally substituted acyl, optionally substituted alkoxycarbonyl, $-C(O)NH_2$, optionally substituted alkylaminocarbonyl, optionally substituted dialkylaminocarbonyl, optionally substituted alkylaminoalkyl, or optionally substituted dialkylaminoalkyl;

or R_{18} and R_{19} are taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form a saturated, unsaturated or partially saturated C_4-C_6 carbon ring.

2. A compound of claim 1 having Formula 2 or Formula 3:



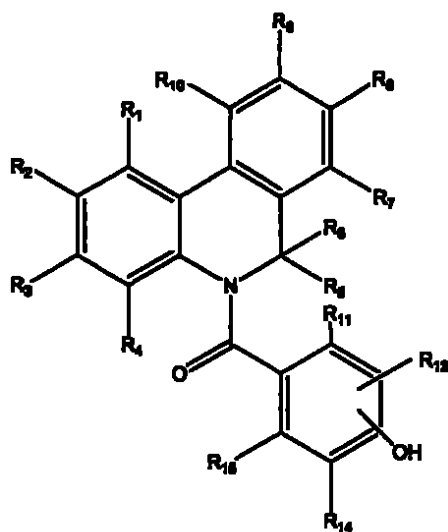
Formula 2



Formula 3

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

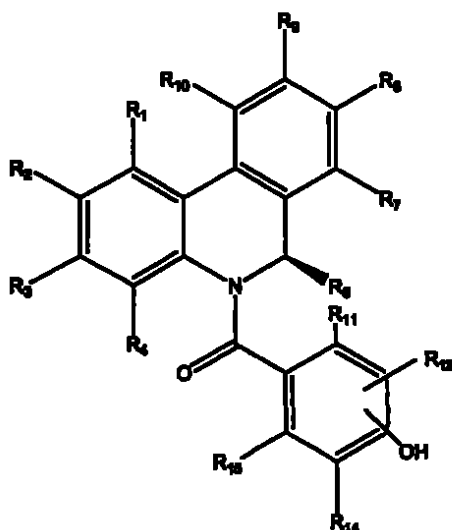
3. A compound of claim 1 having Formula 4:



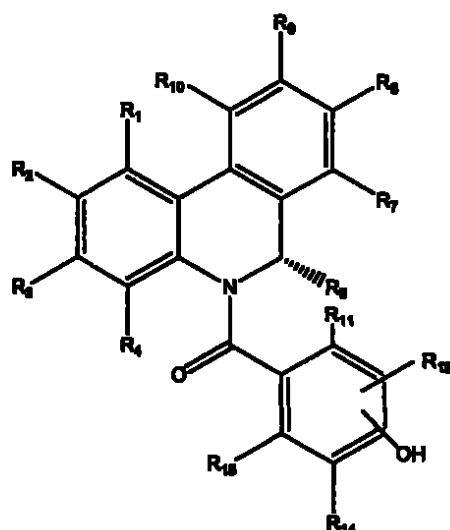
Formula 4

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

4. A compound of claim 3 having Formula 5 or 6:



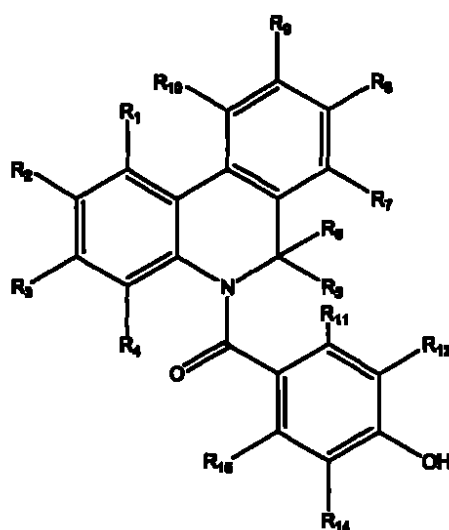
Formula 5



Formula 6

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

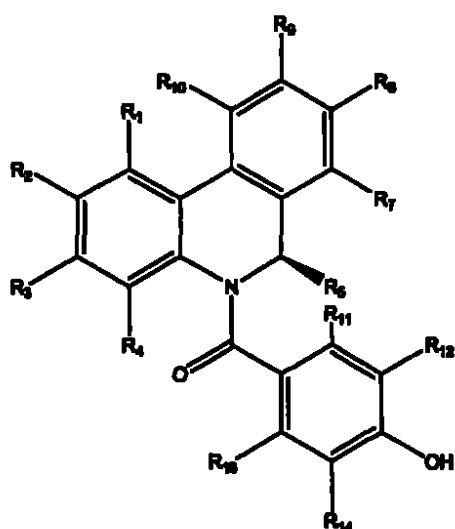
5. A compound of Claim 1 having Formula 7:



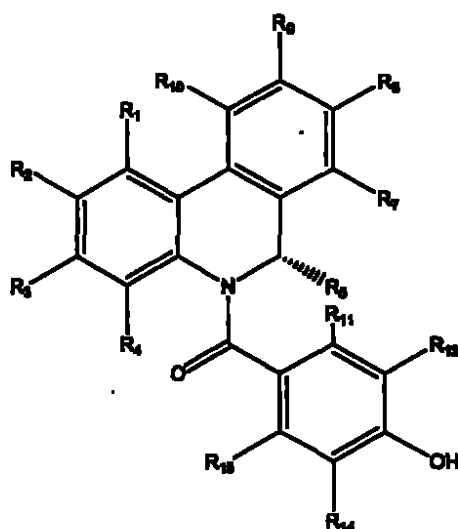
Formula 7

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

6. A compound of claim 5 having Formula 8 or 9:



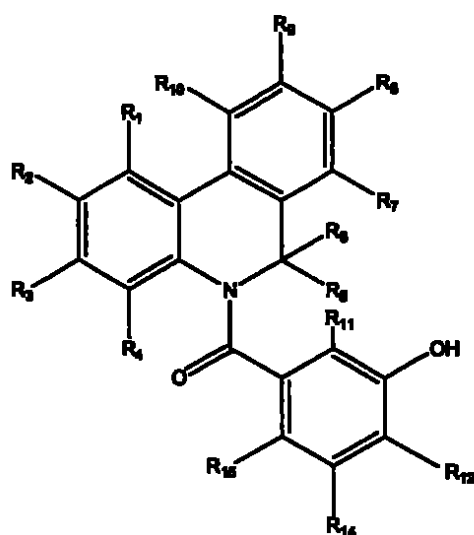
Formula 8



Formula 9

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

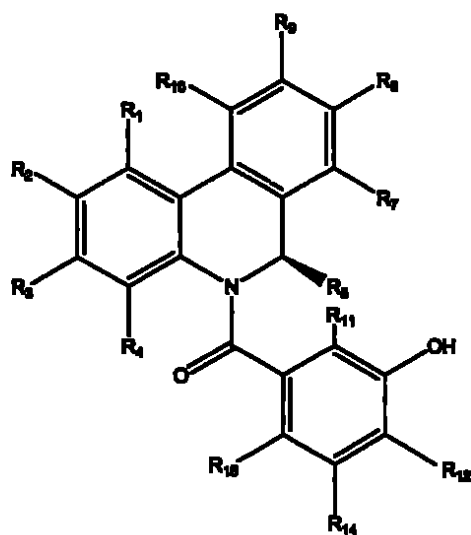
7. A compound of claim 1 having formula 10:



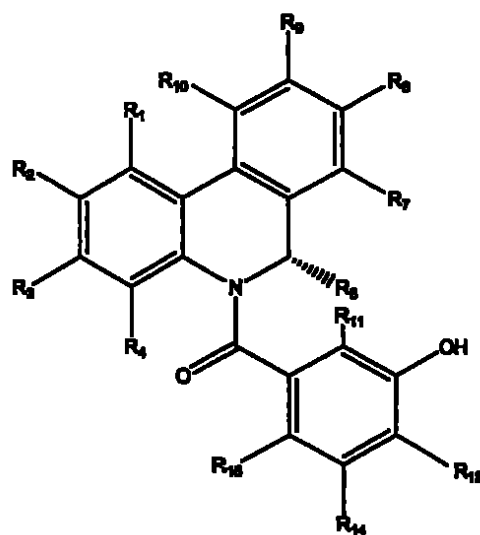
Formula 10

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

8. A compound of claim 7 having Formula 11 or 12:



Formula 11



Formula 12

or a pharmaceutically acceptable salt or ester form thereof.

9. A compound as claimed in any one of claims 1 to 8 wherein at least one of R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, and R₁₀ is halogen.

0 112

10. A compound of claim 9 wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , and R_{10} are hydrogen or halogen.
11. A compound as claimed in claim 9 or claim 10 wherein at least one of R_3 or R_8 is halogen.
12. A compound of claim 10 wherein R_3 and R_8 are halogen.
13. A compound of claim 10 wherein R_3 or R_8 is chlorine or fluorine or R_3 and R_8 are chlorine or fluorine.
14. A compound of any one of claims 1 to 13 wherein R_{12} , R_{14} and R_{15} are hydrogen, halogen, hydroxy, or alkoxy
15. A compound of claim 14 wherein R_{12} , R_{14} and R_{15} are hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or methoxy.
16. A compound of any one of claims 1 to 8 wherein at least one of R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , and R_{10} , is halogen, R_{12} , R_{14} and R_{15} are hydrogen, chlorine, bromine, fluorine, hydroxy, or methoxy and R_{13} is hydrogen.
17. A compound of claim 1 that is 4-[[$(6R)$ -8-fluoro-6-methylphenanthridin-5($6H$)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[$(6S)$ -8-fluoro-6-methylphenanthridin-5($6H$)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[$(6S)$ -8-fluoro-6-methylphenanthridin-5($6H$)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[$(6R)$ -8-fluoro-6-methylphenanthridin-5($6H$)-yl]carbonyl]phenol; 3-fluoro-4-[[$(6R)$ -8-fluoro-6-methylphenanthridin-5($6H$)-yl]carbonyl]phenol; 3-fluoro-4-[[$(6S)$ -8-fluoro-6-methylphenanthridin-5($6H$)-yl]carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

... 0 ~~11~~
13

18. A compound of claim 1 that is 4-fluoro-3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-fluoro-3-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-fluoro-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-fluoro-4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-chloro-5-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

19. A compound of claim 1 that is 2-chloro-5-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-bromo-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 2-bromo-4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-bromo-3-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-bromo-3-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

20. A compound of claim 1 that is 4-[[[(6R)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]-2-methoxyphenol; 4-[[[(6S)-8-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]-2-methoxyphenol; 4-[[[(6S)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

21. A compound of claim 1 that is 4-[[[(6R)-6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[[[(6-ethyl-8-fluorophenanthridin-5(6H)-yl) carbonyl]-3-fluorophenol; 3-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 3-[[[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

0 114

22. A compound of claim 1 that is 4-[(3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[[[(6R)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

23. A compound of claim 1 that is 4-[[[(6S)-3-chloro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 3-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 3-[[[(6R)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 3-[[[(6S)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

24. A compound of claim 1 that is 4-[[[(6R)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6S)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[(3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[[[(6R)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; 4-[[[(6S)-3-fluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]benzene-1,3-diol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

25. A compound of claim 1 that is 4-[(3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6S)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

26. A compound of claim 1 that is 4-[(3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6S)-3,8-Difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]phenol; 4-[[[(6R)-3,8-difluoro-6-methylphenanthridin-5(6H)-yl]carbonyl]-2-fluorophenol; or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or solvate form thereof.

27. A method of modulating cytokine expression in a subject comprising providing to the subject a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

28. The method of claim 27 wherein said cytokine is IL-6.

29. The method of claim 27 wherein said subject has chronic inflammatory disease.

30. The method of claim 29 wherein said chronic inflammatory disease is atherosclerosis, myocardial infarction, congestive heart failure, inflammatory bowel disease, or arthritis.

31. A method of treating chronic inflammatory disease comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

32. A method of treating rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies, osteoarthritis, psoriatic arthritis, or juvenile arthritis comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

33. A method of treating inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, or indeterminate colitis comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

116

34. A method of treating psoriasis comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

35. A method of treating asthma or chronic obstructive pulmonary disease comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

36. A method of treating stroke, ischemia, or reperfusion injury comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

37. A method of lowering cholesterol, triglycerides, Lp(a), and LDL levels; inhibiting or treating hypercholesteremia, hyperlipidemia, cardiovascular disease, atherosclerosis, acute coronary syndrome, peripheral vascular disease, restenosis, or vasospasm comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

38. A method of treating Alzheimer's disease, cognitive decline, or senile dementia comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

39. A method of treating type II diabetes comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

40. A method of treating sepsis in a mammal comprising providing to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

6 1.3
1A

41. A kit for modulating cytokine expression in a subject, the kit comprising a container, a pharmaceutical composition contained therein comprising a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

42. A kit for treating chronic inflammatory disease in a subject, the kit comprising a container, a pharmaceutical composition contained therein comprising a compound as claimed in any one of claims 1 to 26.

43. A composition comprising a compound as claimed in any one of claims 1 to 26 and a pharmaceutically acceptable carrier.

44. A method comprising contacting a compound as claimed in any one of claims 1 to 26 with a cell.

45. The method as claimed in claim 44 wherein the cell is characterized by an overexpression of cytokine.

46. The method as claimed in claim 45 wherein said cytokine is IL-6.

47. The method as claimed in claim 44 further comprising determining the level of expression of said cytokine.

48. The method of as claimed in claim 47 wherein said determining step is made before said contacting step.

49. The method as claimed in claim 47 wherein said determining step is made after said contacting step.

50. A compound as claimed in any one of claims 1 to 26 for use as a medicament.

118

51. Use of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26 in the preparation of a medicament for the modulation of cytokine expression in a subject.

52. Use as claimed in claim 51 wherein said cytokine is IL-6.

53. Use as claimed in claim 51 for the treatment of chronic inflammatory disease.

54. Use of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26 in the preparation of a medicament for the treatment of chronic inflammatory disease.

55. Use of a compound as claimed in any one of claims 1 to 26 in the preparation of a medicament for the treatment of rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies, osteoarthritis, psoriatic arthritis, or juvenile arthritis,

for the treatment of inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, or indeterminate colitis,

for the treatment of psoriasis,

for the treatment of asthma or chronic obstructive pulmonary disease,

for the treatment of stroke, ischemia, or reperfusion injury,

for the lowering of cholesterol, triglycerides, Lp(a), and LDL levels; for the inhibition or treatment of hypercholesteremia, hyperlipidemia, cardiovascular disease, atherosclerosis, acute coronary syndrome, peripheral vascular disease, restenosis, or vasospasm,

for the treatment of Alzheimer's disease, cognitive decline, or senile dementia,

for the treatment of type II diabetes,

or for the treatment of sepsis in a mammal.

FENOLES DE CARBONILO FENANTRIDINA COMO
MODULADORES DE CITOQUINA

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica la prioridad para la solicitud provisional número de serie 60/606,784 presentada en septiembre 2, 2004 incorporada aquí como referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES

[0002] La presente invención se relaciona de manera general con compuestos de carbonilo fenantridina tal como fenoles de carbonilo fenantridina sustituidos y métodos para usar los mismos.

[0003] La capacidad de los ligandos para que el receptor de estrógeno inhiba la expresión del gen inflamador y origine una reducción de citoquinas, quimoquinas, y moléculas de adhesión y enzimas inflamatorias es bien conocida. Un componente común de las condiciones inflamatorias crónicas es la infiltración de monocito y leucocito polimorfo nuclear dentro del sitio del daño a través de la expresión incrementada de citoquinas y moléculas de adhesión responsables por su recrudecimiento. La sobreproducción de la interleuquina citoquina (IL-6) se ha asociado con estados de inflamación crónico (Bauer M. A., Herrmann F., Ann. Hematol, 1991, 62, 203). La síntesis del gen IL-6 se cree se induce por el factor nuclear de factor de

transferencia kB(NF-kB) . La interferencia en esta etapa en el proceso inflamatorio regula efectivamente el proceso proliferativo no controlado que ocurre en estas condiciones crónicas.

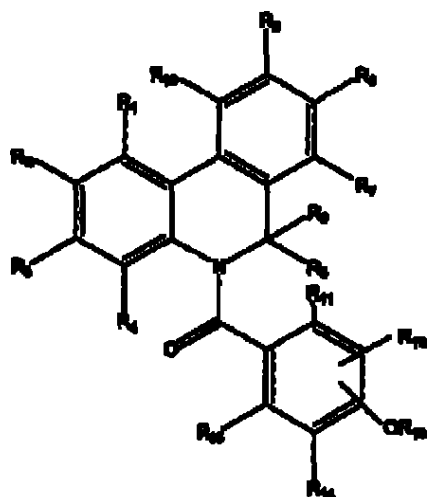
[0004] La activación del receptor de estrógeno suministra un medio para tratar el componente inflamatorio de enfermedades tales como aterosclerosis, infarto del miocardio (MI), falla cardíaca congestiva (CHF), enfermedad inflamatoria del intestino y artritis, en parte por interferir con la expresión de citoquina. Otras indicaciones terapéuticas de este tipo de moléculas incluyen diabetes tipo II (Cefalu, J Womens Health & Gender-based Med. 2001, 10, 241; Yuan et al, Science, 2001, 293, 1673), osteo artritis (Pelletier et al, Arthr. & Rheum., 2001, 44:1237; Felson et al, Curr Opinion Rheum, 1998, 10, 269) asma (Chin-Chi Lin et.al, Immunol. Lett., 2000, 73, 57), enfermedad de Alzheimer (Roth, A. et. al., J. Neurosci. Res., 1999, 57, 399) y enfermedades auto inmunes tales como esclerosis múltiple y artritis remautoide.

[0005] En vista de lo anterior, existe la necesidad para la identificación de ligandos para el receptor de estrógeno y para métodos para utilizar los ligandos identificados para modular la actividad del receptor, y, preferiblemente, tratar la enfermedad.

RESUMEN

[0006] La presente invención suministra, inter alia, compuestos de fenantridina carbonilo y composición,

particularmente aquellas que encuentran uso como ligandos para el receptor de estrógeno y métodos para utilizar los mismos. Los Compuestos representativos de la invención incluyen aquellos de la fórmula 1:



Fórmula 1

En donde:

R₁, R₂, R₃, y R₄, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior, halógeno, o arilo;

R₇, R₈, R₉, y R₁₀, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior o halógeno;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, y R₁₅ son, independientemente, hidrógeno, hidroxil, alquilo inferior, alcoxi,

O halógeno;

Uno de R₅ y R₆ es hidrógeno y el otro es alquilo inferior;

R₁₃ es hidrógeno, -(C=O)R₁₆, -S(O)2R₁₇, -S(O)2N(R₁₈)(R₁₉), o D-glucuronidato;

R₁₆ es alquilo, aralquilo o arilo;

R₁₇ es alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, o alquino;

R₁₈ y R₁₉ son, independientemente, hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, monofluoro alquilo, perfluoro alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalqueno, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroximetil alquilo, alcoximetil alquilo, alquil tio alquilo, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, -C(O)NH₂, alquil amino carbonilo, di alquil amino carbonilo, alquil amino alquilo, o di alquil amino alquilo;

O R₁₈ y R₁₉ se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C₄-C₆ saturado, no saturado o parcialmente saturado.

[0007] En algunos compuestos de la presente invención, R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, y R₁₀, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior o halógeno;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, y R₁₅ son, independientemente, hidrógeno, hidroximetil alquilo inferior, alcoximetil, o halógeno;

Uno de R₅ y R₆ es hidrógeno el otro es alquilo inferior;

... 0 121
124

R_{13} es hidrógeno, $-(C=O)R_{16}$, $-S(O)_2R_{17}$, $-S(O)_2N(R_{18})(R_{19})$, o D-glucuronidato;

R_{16} es alquilo, aralquilo o arilo;

R_{17} es alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, o alquinilo;

R_{18} y R_{19} son, independientemente, hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, monofluoroalquilo, perfluoroalquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquenilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxí- (C_2-C_6) alquilo, alcoxi alquilo, alquil tio alquilo, carbonilo, acilo, alcoxi carbonilo, $-C(O)NH_2$, alquil amino carbonilo, di alquil amino carbonilo, alquil amino alquilo, o di alquil amino alquilo.

O R_{18} y R_{19} se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C_4-C_6 saturado, no saturado o parcialmente saturado.

[0008] La presente invención también suministra, inter alia, prodrogas, enantiómeros, hidratos, solvatos, o sales farmacéuticamente aceptables o esteres de Formula 1.

[0009] Métodos para utilizar los compuestos de la presente invención también se suministran. Por ejemplo, se pueden utilizar compuestos de ejemplo para modular la expresión de citoquina en una célula. En algunas modalidades, una cantidad efectiva de uno o más compuestos de la presente invención se pueden suministrar a

un sujeto para inhibir la expresión de citoquina en el sujeto. En un aspecto, la citoquina es interleuquina, por ejemplo IL-6. En algunas modalidades, el sujeto sufre de enfermedad inflamatoria crónica. En algunas modalidades, el sujeto sufre de aterosclerosis, infarto del miocardio, falla cardiaca congestiva, enfermedad inflamatoria del intestino o artritis.

[0010] La presente invención también suministra, inter alia, métodos para tratar una condición o enfermedad caracterizada por la actividad o expresión incrementada de citoquina tales métodos comprenden suministrar a un sujeto una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención. En un aspecto, la enfermedad es una enfermedad inflamatoria crónica. En algunas modalidades, el compuesto es útil en el tratamiento del componente inflamatorio de una enfermedad tal como aterosclerosis, infarto del miocardio, falla cardiaca congestiva, enfermedad inflamatoria del intestino o artritis.

[0011] La presente invención también suministra, inter alia, métodos para determinar la actividad de un compuesto de la presente invención. El método puede incluir la etapa de poner en contacto un compuesto de la presente invención con una célula y medir la expresión de citoquina en la célula, por ejemplo, mediante Western o Northern Blot. En algunas modalidades, la célula será una que sobre expresa citoquinas. La etapa de medir la expresión de citoquinas en la célula puede ocurrir antes o después de la etapa del contacto. En un aspecto, la citoquina es interleuquina, por ejemplo, IL-6.

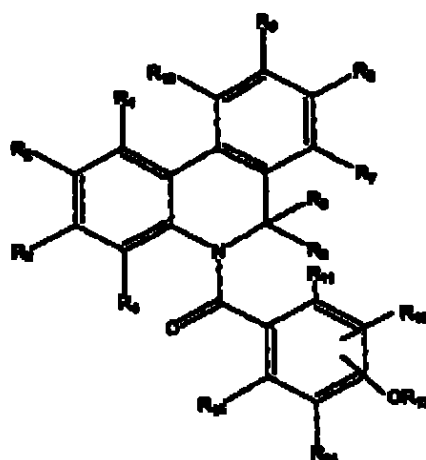
[0012] La presente invención también suministra, inter alia, kits para inhibir la expresión de citoquina y/o para tratar enfermedad inflamatoria crónica en un sujeto que comprende un contenedor, una composición farmacéutica contenida allí que comprende un compuesto de la presente invención, y un inserto de paquete que indica que la composición farmacéutica se puede utilizar para la inhibición de expresión de citoquina y/o para el tratamiento de enfermedad inflamatoria crónica.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0013] La presente invención suministra fenoles carbonilo de fenantridina sustituidos y derivados del fenol carbonilo fenantridina sustituidos, procesos para preparar tales compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, y métodos para utilizar tales compuestos. Compuestos preferidos tienen propiedades que son útiles para el tratamiento, que incluyen la prevención e inhibición de una amplia variedad de enfermedades y trastornos afectados por el receptor estrógeno.

[0014] Compuestos de la presente invención incluyen aquellos de Fórmula 1:

127



Fórmula 1

En donde:

R_1 , R_2 , R_3 , y R_4 , son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior, halógeno, o arilo;

R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior o halógeno;

R_{11} , R_{12} , R_{14} , y R_{15} son, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, alquilo inferior, alcoxi,

o halógeno;

Uno de R_5 y R_6 es hidrógeno y el otro es alquilo inferior;

R_{13} es hidrógeno, $-(C=O)R_{16}$, $-S(O)_2R_{17}$, $-S(O)_2N(R_{18})(R_{19})$, o D-glucuronidato;

R_{16} es alquilo, aralquilo o arilo;

10

R₁₇ es alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, o alquinilo;

R₁₈ y R₁₉ son, independientemente, hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, monofluoro alquilo, perfluoro alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquenilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxí-(C₂-C₆) alquilo, alcoxi alquilo, alquil tio alquilo, carbonilo, acilo, alcoxi carbonilo, -C(O)NH₂, alquil amino carbonilo, di alquil amino carbonilo, alquil amino alquilo, o di alquil amino alquilo;

O R₁₈ y R₁₉ se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C₄-C₆ saturado, no saturado o parcialmente saturado.

[0015] En algunos compuestos de la presente invención, R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, R₈, R₉, y R₁₀, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior o halógeno;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, y R₁₅ son, independientemente, hidrógeno, hidroxí, alquilo inferior, alcoxi, o halógeno;

Uno de R₅ y R₆ es hidrógeno el otro es alquilo inferior;

R₁₃ es hidrógeno, -(C=O)R₁₆, -S(O)₂R₁₇, -S(O)₂N(R₁₈)(R₁₅), o D-glucuronidato;

R₁₆ es alquilo, aralquilo o arilo;

R₁₇ es alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, o alquinilo;

R₁₈ y R₁₉ son, independientemente, hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, monofluoro alquilo, perfluoro alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquenilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxí-(C₂-C₆) alquilo, alcoxi alquilo, alquil tio alquilo, carbonilo, acilo, alcoxi carbonilo, -C(O)NH₂, alquil amino carbonilo, di alquil amino carbonilo, alquil amino alquilo, o di alquil amino alquilo.

O R₁₈ y R₁₉ se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C₄-C₆ saturado, no saturado o parcialmente saturado.

[0016] En algunos compuestos de la presente invención

R₁, R₂, R₃, y R₄, son, independientemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₆, halógeno, o arilo c-14;

R₇, R₈, R₉, y R₁₀, son, independientemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o halógeno;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, y R₁₅ son, independientemente, hidrógeno, hidroxí, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆,

O halógeno;

Uno de R₅ y R₆ es hidrógeno y el otro es alquilo c₁₋₆;

R_{13} es hidrógeno, $-(C=O)R_{16}$, $-S(O)_2R_{17}$, $-S(O)_2N(R_{18})(R_{19})$, o D-glucuronidato;

R_{16} es alquilo C_{1-6} , ar (C_{1-6}) alquilo C_{6-14} o arilo C_{6-14} ;

R_{17} es alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-14} , heteroarilo, cicloalquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-15} , cicloalquenilo C_{4-15} , o alquinilo C_{2-15} ;

R_{18} y R_{19} son, independientemente, hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-15} , alquinilo C_{2-15} , ciclo alcoxi C_{3-15} , monofluoro (C_{1-6}) alquilo, perfluoro (C_{1-6}) alquilo, arilo C_{6-14} , aril (C_{1-6}) alquilo C_{6-14} , cicloalquenilo C_{2-15} , heteroarilo, heteroaril (C_{1-6}) alquilo, hidroxil- (C_{2-6}) alquilo, alcoxi (C_{1-6}) alquilo C_{1-6} , alquil tio (C_{1-6}) alquilo C_{1-6} , carbonilo, acilo, alcoxi carbonilo C_{1-6} , $-C(O)NH_2$, alquil amino carbonilo C_{1-6} , di (C_{1-6}) alquil amino carbonilo, C_{1-6} alquil amino (C_{1-6}) alquilo, o di (C_{1-6}) alquil amino (C_{1-6}) alquilo;

O R_{18} y R_{19} se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C_4-C_6 saturado, no saturado o parcialmente saturado.

[0017] Compuestos de la presente invención también incluyen, prodrogas, enantiómeros, diastereómeros racematos, isómeros geométricos, hidratos, solvatos, o sales farmacéuticamente aceptables o esteres de la Formula 1.

[0018] Compuestos de ejemplo de la fórmula 1 incluyen aquellos en donde al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , es

0 127
131

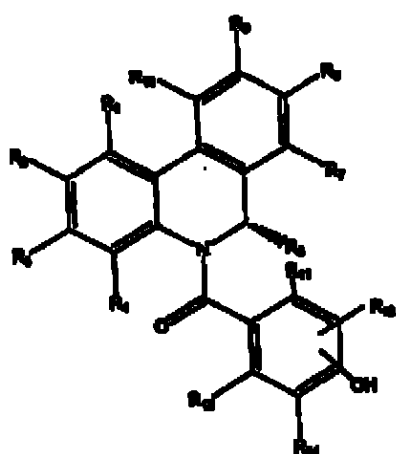
halógeno. Por ejemplo, en una modalidad de ejemplo, R_3 o R_8 es halógeno. En otra modalidad de ejemplo, R_3 y R_8 son halógenos. En otra modalidad ejemplo R_3 o R_8 es cloro o flúor o R_3 y R_8 son cloro o flúor. Modalidades de ejemplo de los compuestos de la formula 1 incluyen aquellos en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , son halógeno e hidrógeno.

[0019] Compuestos de ejemplo de la fórmula 1 incluyen aquellos en donde R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, halógeno, hidroxí, o alcoxi. Por ejemplo en algunas modalidades, R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxí, o metoxi.

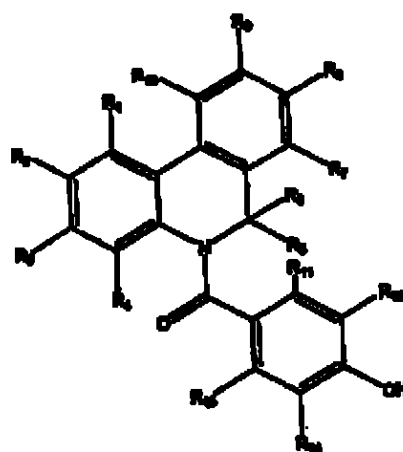
[0020] Compuestos de ejemplo de la fórmula 1 incluyen aquellos en donde R_{13} es hidrógeno.

[0021] Modalidades de ejemplo de la fórmula 1 incluyen aquellos en donde al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , es halógeno, R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxí, o alcoxi (por ejemplo, metoxi) y R_{13} es hidrógeno .

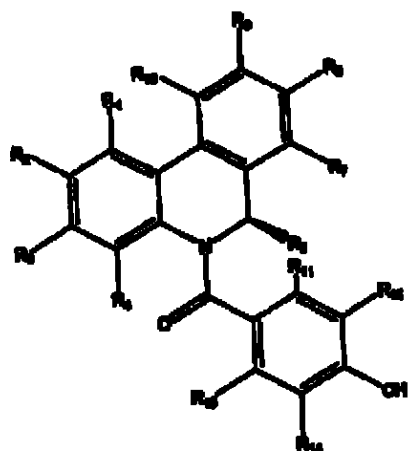
[0022] Modalidades adicionales de ejemplo de la fórmula 1 incluyen aquellos en donde al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , es halógeno y los otros son hidrógeno. Modalidades adicionales incluyen aquellas en donde al menos uno de R_{12} , R_{14} y R_{15} es hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxí, o alcoxi (por ejemplo, metoxi) y los otros son hidrógeno. Para ambas de estas modalidades R_{13} es preferiblemente hidrógeno.



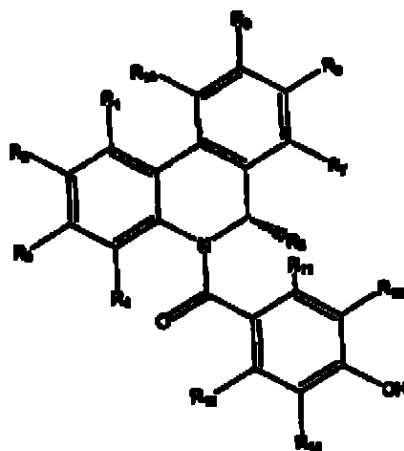
Fórmula 6



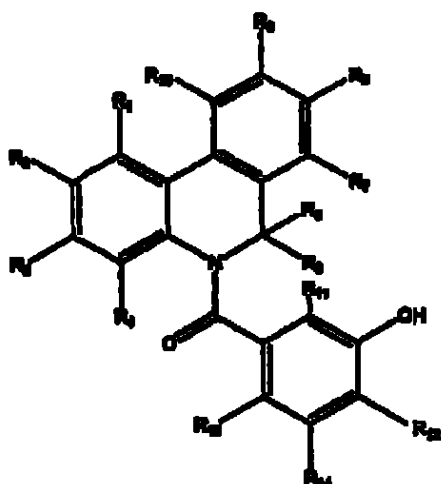
Fórmula 7



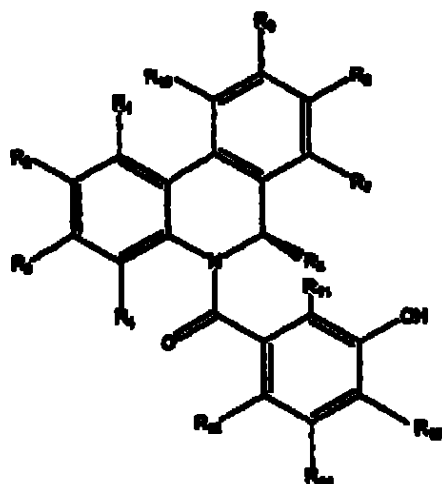
Fórmula 8



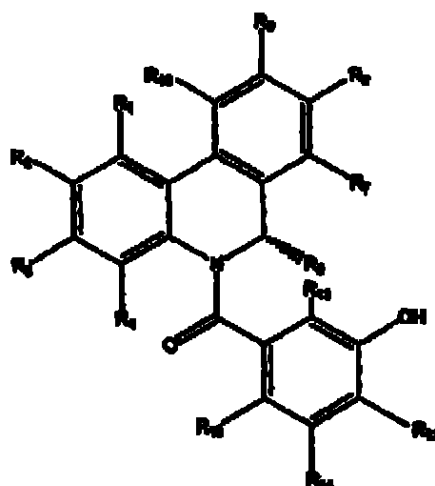
Fórmula 9

121
13A

Fórmula 10



Fórmula 11



Fórmula 12

En donde:

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₄, y R₁₅ son como se define aquí para la fórmula 1.

[0024] La presente invención también suministra, inter alia, prodrogas, enantiómeros, diastereómeros, racematos, isómeros geométricos, hidratos, solvatos, o sales farmacéuticamente aceptables o esteres de los compuestos de las fórmulas 2 a 12

... 0 12
35

[0025] Compuestos de las fórmulas 2 a 12 incluyen aquellos en donde al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , es halógeno. Por ejemplo en una modalidad de ejemplo R_3 o R_8 es halógeno. En otra modalidad de ejemplo, ambos R_3 o R_8 son halógenos. En otra modalidad de ejemplo, R_3 o R_8 es cloro o flúor o R_3 y R_8 son cloro o flúor. Compuestos de ejemplo de las fórmulas 2 a 12 incluyen aquellos En donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} son hidrógeno o halógeno.

[0026] Compuestos de ejemplo de las fórmulas 2 a 12 incluyen aquellos En donde R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, halógeno, hidroxí, o alcoxi. Por ejemplo en algunas modalidades, R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxí, o metoxi.

[0027] Modalidades de ejemplo de las fórmulas 2 a 12 incluyen aquellos En donde al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , son halógeno y R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxí, o metoxi.

[0028] Derivados de 6-sustituido-fenantridin-5(6H)-ilcarbonilofenilo sustituido de ejemplo de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, 4- {[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 3- {[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4- {[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil} fenol; 3- {[(6S) 8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6R)-il]carbonil}fenol; 3-fluoro-4- {[(6H)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 3-fluoro-4- {[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-fluoro-3- {[(6H)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-fluoro-3- {[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-fluoro-4- {[(6H)-8-

12/30

fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-fluoro-4-
{[(65)-8-fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-
cloro-5-{[(6H)-8-fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-
il]carbonil}fenol; 2-cloro-5-{[(6S)-8-fluoro-6- metilfenantridin-
5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-bromo-4-{[(6H)-8-fluoro-6-
metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-bromo-4-{[(6S)-8-
fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-il]carbonilo}fenol; 4-bromo-3-
{[(6H)-8-fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil}fenol; 4-
bromo-3-{[(6S)-8-fluoro-6- metilfenantridin-5(6R)-
il]carbonil}fenol; 4- {[(6H)-8-fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-
il]carbonil}-2-metoxi fenol; 4-{[(65)-8-fluoro-6-
metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}-2-metoxi fenol; 4-{[(66)-6-
etil-8- fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-{[(6S)-6-
etil-8-fluorofenantridin- 5(6H)-il]carbonil}fenol; 3-{[(6R)-6-
etil-8-fluorofenantridin-5(6H)- il]carbonil}fenol; 4-{[(6H)-6-
etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno- 1,3-diol; 4-
[(6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il) carbonil]-3-fluoro fenol;
3-[(3- cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol; 3-
{[(6H)-3-cloro-6- metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 3-
{[(65)-3-cloro-6- metilfenantridin-5(6S-il]carbonil}fenol; 4-[(3-
cloro-6-metilfenantridin- 5(6H)-il)carbonil]fenol; 4-{[(6H)-3-
cloro-6-metilfenantridin-5(6H)- il]carbonil}fenol; 4- {[(6S)-3-
cloro-6-metilfenantridin-5(6H)- il]carbonil}fenol; 4-[3-cloro-6-
nietlilfenantridin-5(6H)-il]carbonil]benceno-1,3-diol; 4-{[(6H)-
3- cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol;
4-{[(65)-3,cloro-6- metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-
1,3-diol; 3-[(3-fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-
il]carbonil]fenol; 3- {[(6H)-3-fluoro-6- metilfenantridin-5(6H)-
il]carbonil} fenol; 3- {[(6,S)-3-fluoro-6- metilfenantridin-

... 0 183
B7

5(6,10-il)carbonil}fenol; 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}fenol; 4-[[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-[[(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}benceno-1,3-diol; 4-[[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; 4-[[(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; 4-[(3,8-di fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}fenol; 4-[[(6R)-3,8-Di fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-[[(6H)-3,8-Di fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol y sales farmacéuticamente aceptables y formas de éster de estas.

[0029] Como se utiliza aquí solo o como parte de un grupo, el término "alquilo" incluye grupos de hidrocarburo alifático de cadena recta y ramificada que tienen el número específico de átomos de carbono, por ejemplo metilo (ME), etilo (ET)cloruro de calcio, propilo (PR), isopropilo (I-PR), isobutilo (I-BU), secbutilo (s-Bu), tercbutilo (t-Bu), isopentilo, isohexilo y similares. El término "alquilo" incluye adicionalmente grupos de hidrocarburo no sustituidos y mono-, di- y tri sustituidos, los sustituyentes adecuados seleccionados de alcoxi, hidroxil, acilo, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o dos grupos alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, amino acilo, acilamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono, tioalcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, mono- o di-

sustituidos con alquilo a alcoxi inferior, trihalometilo, arilo, y heteroarilo, se prefiere particularmente con sustitución de halógeno. Grupos alquilo preferidos de uno a doce átomos de carbono, más preferiblemente de uno a seis átomos de carbono a menos que se defina otra cosa. Alquilo inferior de uno a seis átomos de carbono.

[0030] El número de carbono como se utiliza en las definiciones aquí se refiere a la estructura de carbono y a la ramificación del carbono, pero no incluye átomos de carbono de los sustituyentes, tal como sustituyentes alcoxi y similares.

[0031] El término "alquenilo" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a un grupo de hidrocarburo alifático insaturado o parcialmente insaturado que tiene el número específico de átomos de carbono, por ejemplo etenilo, 1-propenilo, 2, butenilo, etc. El término "alquenilo" incluye adicionalmente grupos de hidrocarburo no sustituido y mono, di- y tri sustituido, sustituyentes adecuados se seleccionan de alcoxi, hidroxilo, acilo, alquilo de uno a seis átomos de carbono, alcoxi de uno a seis átomos de carbono, alquenilo de dos a seis átomos de carbono, alquinilo de dos a seis átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o dos grupos alquilo de uno a seis átomos de carbono, aminoacilo, acilamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono, mono o di sustituido con alquilo o alcoxi inferior, trihalometilo, arilo y heteroarilo se prefiere particularmente con sustitución de halógeno. Grupos alquenilo preferidos tienen de uno a doce átomos de carbono.

[0032] El término "alquinilo", como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a una cadena de hidrocarburo alifático sustituido o no sustituido e incluye, pero no se limita a, cadenas rectas y ramificadas y que contiene al menos un triple enlace. Preferiblemente, la porción alquinilo tiene dos a diez átomos de carbono. En ciertas modalidades, el alquinilo puede contener más de un enlace triple y, en tales casos, el grupo alquinilo debe contener al menos tres átomos de carbono. Específicamente incluido dentro de la definición de "alquinilo" están aquellas cadenas de hidrocarburo alifático que se sustituyen opcionalmente. Sustituyentes adecuados se seleccionan de acilooxi, hidroxilo, acilo, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, alqueno de 2 a 6 átomos de carbono, alquino de 2 a 6 átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o dos grupos alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, aminoacilo, aciloamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono, mono- o di sustituido con alquilo o alcoxi, trihalometilo, etilo, y heteroarilo.

[0033] El término "perfluoroalquilo", como se utiliza aquí, cuando se usa solo o como parte de otro grupo, se refiere a un grupo alquilo sustituido con dos o más átomos de flúor e incluye, pero no se limita a, cadenas rectas o ramificadas, tal como $-CF_3$, CH_2CF_3 , $-CF_2CF_3$ y $-CH(CF_3)_2$.

[0034] El término "carbonilo" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere al grupo $-C(=O)$.

[0035] El término "acilo", empleado sólo o en combinación con otros términos, se define aquí como, a menos que se establezca otra cosa, un arilalquilo, heteroarilalquilo, cadena recta (C_2-C_{10}), o porción de hidrocarburo monovalente de cadena ramificada (C_4-C_{11}), o, cadena recta (C_2-C_{10}); en donde el átomo de carbono, ligado covalentemente a la estructura química definida, se oxida para el estado de oxidación carbonilo. Tales porciones de hidrocarburos pueden ser mono o poliinsaturados, y pueden existir en las configuraciones E o Z. Los compuestos de esta invención significa que incluyen todas las configuraciones E y Z posibles. Ejemplos de porciones acilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos tales como acetilo, propienilo, butirilo, 3,3-dimetilbutirilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, hexanoilo, hexenoilo, decanoilo, benzilo, nicotinilo, isonicotinilo, y homólogos, isómeros, y similares.

[0036] El término "alquilamino" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere al grupo $-NH-$ alquilo.

[0037] El término "alquilamino carbonilo" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a un grupo alquilamino unido a través de un grupo carbonilo.

... 0 137
41

[0038] El término "dialquilamino" aquí sólo o como parte de un grupo se refiere al grupo $-N(\text{alquilo})_2$, en donde el grupo alquilo es el mismo o diferente.

[0039] El término "dialquilamino carbonilo" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a un grupo dialquilamino unido a través de un grupo carbonilo.

[0040] El término "alquilamino carbonilo" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a un grupo alquilamino unido a través de un grupo carbonilo.

[0041] El término "alcoxi" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a un grupo se refiere al grupo R_a-O- En donde R_a es un grupo alquilo como se definió anteriormente.

[0042] El término "alcoxi carbonilo" como se utiliza aquí sólo o como parte de un grupo se refiere a un grupo alcoxi unido a través de un grupo carbonilo.

[0043] El término "cicloalquilo" incluye cadenas alquilo ciclizadas que tienen el número especificado de átomos de carbono, por ejemplo, ciclo propilo, ciclo butilo, ciclo pentilo, y ciclo hexilo.

[0044] El término "cicloalquenilo" incluye cadenas alquilo ciclizadas que contienen un grupo alquenilo que tiene el número específico de átomos de carbono, por ejemplo, ciclo pentenilo, ciclo hexenilo, y similares. Incluido específicamente dentro de la definición de cicloalquilo y cicloalquenilo están aquellos grupos cicloalquilo que se sustituyen opcionalmente. Sustituyentes adecuados se seleccionan de aciloxi. Hidroxi, acilo, alquilo de uno a seis átomos de carbono, alcoxi de uno a seis átomos de carbono, alquenilo de dos a seis átomos de carbono, alquinilo de dos a seis átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o dos grupos alquilo de uno a seis átomos de carbono, aminoacilo, acilamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono mono- o di- sustituido con alquilo inferior o alcoxi, trihalometilo, arilo y heteroarilo. Grupos cicloalquilo y cicloalquenilo preferidos contienen de tres a quince átomos de carbono.

[0045] El término "halógeno" incluye flúor, cloro, yodo, y bromo.

[0046] El término "arilo" se refiere a una porción carbocíclica aromática de hasta 20 átomos de carbono, que puede ser de anillo único (mono cíclico) o múltiples anillos (bi cíclico hasta tres anillos) fusionados juntos o ligados covalentemente. Cualquier posición de anillo adecuado de la porción arilo se puede ligar covalentemente a la estructura química definida. Ejemplos de porciones arilo incluyen, pero no

0 131
V43

se limitan a, grupos químicos tales como fenilo, 1-naftilo, 2-naftiilo, dihidronaftilo, tetrahidronaftilo, difenilo, antrilo, fenantrilo, fluorenilo, indanilo, bifenilenilo, acenaftenilo, acenaftilenilo, y similares. Incluido específicamente con el término "arilo" están aquellos grupos arilo que se sustituyen opcionalmente. Sustituyentes adecuados se seleccionan de aciloxi, hidroxí, acilo, alquilo de uno a seis átomos de carbono, alcoxi de uno a seis átomos de carbono, alqueniilo de dos a seis átomos de carbono, alquinilo de dos a seis átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o dos grupos alquilo de uno a seis átomos de carbono, aminoacilo, acilamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono, tioalcoxi de uno a seis átomos de carbono mono- o di- sustituido con alquilo inferior o alcoxi, trihalometilo, arilo y heteroarilo. Grupos arilo preferidos contienen de seis a catorce átomos de carbono.

[0047] El término "arilalquilo" como se utiliza aquí cuando se utiliza sólo o como parte de otro grupo se refiere al grupo $-R_a-R_b$, en donde R_a es un grupo alquilo como se definió anteriormente, sustituido por R_b , un grupo arilo como se definió anteriormente. En una modalidad preferida, la cadena alquilo es una porción de hidrocarburo saturado de cadena recta (C_1-C_6), o cadena ramificada (C_2-C_7). Ejemplos de porciones arilalquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos tales como bencilo, 1-feniletilo, 2-feniletilo, difenilmetil, 3-fenilpropilo, 2-fenilpropilo, fluorenilmetil, y homólogos, isómeros, y similares. Estos se pueden sustituir opcionalmente como se discutió para los grupos arilo y alquilo definidos anteriormente.

[0048] El término "anillo heterocíclico o sistema de anillo", empleado sólo o en combinación con otros términos, se define aquí como un anillo saturado o parcialmente insaturado o sistema de anillo, que puede ser anillo único (mono cíclico) o múltiples anillos (bi cíclico, hasta tres anillos) fusionados juntos o ligados covalentemente. Los anillos pueden contener de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de nitrógeno (N), oxígeno (O) o azufre (S), en donde los átomos de nitrógeno o azufre se oxidan opcionalmente, o los átomos de nitrógeno se cuaternarizan opcionalmente. Cualquier posición de anillo adecuado de la posición heteroarilo se puede ligar covalentemente a la estructura química definida. Ejemplos de anillos heterocíclicos insaturados o sistemas de anillo incluyen, pero no se limitan a heterociclos tales como, pero no se limitan a, grupos químicos tales como furano, tiofeno, pirrol, N-metilpirrol, pirazol, N-metilpirazol, imidazol, N-metilimidazol, oxazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, 1H-tetrazol, 1-metiltetrazol, 1,3,4-oxadiazol, 1H-1,2,4-triazol, 1-metil- 1,2,4-triazol 1,3,4- triazol, 1-metil-1,3,4-triazol, piridino, pirimidino, pirazino, piridazina, benzoxazol, benzisoxazol, benzotiazol, benzofuran, benzotiofeno, tiantreno, dibenzo[b,d] furano, dibenzo[b,d]tiofeno, benzimidazol, N-metilbenzimidazol, indol, indazol, quinolina, isoquinolina, quinazolina, quinoxalina, purina, pteridina, 9H-carbazol, β -carbolina, y similares. Ejemplos de anillos heterocíclicos parcialmente insaturados o sistemas de anillo incluyen, pero no se limitan a grupos químicos tales como azetidínilo, 1,4-dioxanilo, hexahidroazepínilo, piperazínilo, piperidínilo, pirrolidínilo, morfolínilo, tiomorfolínilo,

dihidrobenzimidazolilo, dihidrobenzofuranilo,
dihidrobenzotienilo, dihidrobenzoxazolilo, dihidrofuranilo,
dihidroimidazolilo, dihidroindolilo, dihidroisooxazolilo,
dihidroisotiazolilo, dihidrooxadiazolilo, dihidrooxazolilo,
dihidropirazinilo, dihidropirazolilo, dihidropiridinilo,
dihidropirimidinilo, dihidropirrolilo, dihidroquinolinilo,
dihidrotetrazoilo, dihidrotiadiazolilo, dihidrotiazolilo,
dihidrotienilo, dihidrotriazolilo, dihidroazetidino, dihidro-
1,4-dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo,
tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, y similares.

Incluido específicamente dentro del término "hetero ciclo" están aquellos grupos heterocíclicos que se sustituyen opcionalmente. Sustituyentes adecuados se seleccionan de aciloxi, hidroxilo, acilo, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, alqueno de 2 a 6 átomos de carbono, alquino de 2 a 6 átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o más grupos alquilo de uno a 6 átomos de carbono, aminoacilo, aciloamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, tioalcoxi de 1 a 6 átomos de carbono mono- o di-sustituido con alquilo inferior o alcoxi, y trihalometilo.

[0049] Como se utiliza aquí, el término "heteroarilo", cuando se utiliza sólo o como parte de otro grupo, se define como un sistema de anillo heterocíclico aromático sustituido o no sustituido (mono cíclico o bi cíclico). Los grupos heteroarilo pueden tener, por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 50 átomos de carbono (a menos que se especifique otra cosa explícitamente) con aproximadamente 4 a aproximadamente 10 se

prefiere. En algunas modalidades, los grupos heteroarilo son sistemas de anillo heterocíclico aromáticos que tiene aproximadamente 4 a aproximadamente 14 átomos de anillo y contienen átomos de carbono y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados de hidrógeno, nitrógeno o azufre. Grupos heteroarilo representativos son furano, tiofeno, indol, asaíndol, oxazol, triazol, isoxazol, isotiazol, imidazol, N-metil imidazol, piridino, pirimidino, pirazina, pirrol, N-metil pirrol, pirazol, N-metil pirazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,4-triazol, 1-metil- 1,2,4-triazol, 1H-tetrazol, 1-metiltetrazol, benzoxazol, benzotiazol, benzofuran, benzisoxazol, benzimidazol, N-metilbenzimidazol, azabenzimidazol, indazol, quinazolina, quinolina, y isoquinolina. Grupos heteroarilo aromáticos bicíclicos incluyen fenilo, piridino, pirimidino o anillos piridizina que se fusionan a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de seis miembros que tiene un átomo de nitrógeno; (b) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de cinco o seis miembros que tienen dos átomos de nitrógeno (c) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de cinco miembros que tiene un átomo de nitrógeno junto con un átomo de azufre u oxígeno, o (d) fusionado a un anillo heterocíclico (insaturado) aromático de cinco miembros que tiene un heteroátomo seleccionado o, N o S. Específicamente incluido dentro de la definición "heteroarilo" están aquellos anillos heterocíclico aromáticos que son sustituidos, por ejemplo con uno a cinco miembros seleccionados del grupo que consiste de aciloxi, hidroxí, acilo, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, alquénilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquínilo de 2 a 6 átomos de carbono, amino, amino sustituido por uno o dos grupos alquilo de 1 a 6

0 148
147

átomos de carbono, aminoacilo, aciloamino, azido, ciano, halo, nitro, tioalcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, tioalcoxi de 1 a 6 átomos de carbono mono- o di-sustituidos con alquilo inferior o alcoxi, y trihalometilo. Cuando existe más de un sustituyente los sustituyentes pueden ser los mismos o diferentes.

[0050] Los compuestos de la presente invención se pueden convertir a sales en particular sales farmacéuticamente aceptables que utilizan los procedimientos de la técnica reconocidos. Los compuestos de las fórmulas 1 a 12 que tienen un centro básico pueden formar sales de adición ácida. Estos se forman, por ejemplo, con ácidos inorgánicos fuertes, tal como ácidos minerales por ejemplo ácido sulfúrico, ácido fosfórico, o un ácido hidrohálico, con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tal como ácidos alcanocarboxílicos de uno a cuatro átomos de carbono que se sustituyen o no se sustituyen, por ejemplo, por halógeno, por ejemplo ácido acético tal como ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico, o ácido tereftálico, tal como ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o ácido cítrico, tal como amino ácidos, por ejemplo aspártico o ácido glutámico, o tal como ácido benzoico, o con ácidos sulfónicos orgánicos tales como alcaleno- (de 1 a 4 átomos de carbono) o ácidos arilosulfónicos, por ejemplo metano- o ácido p- toluenosulfónico. Sales de adición ácida correspondientes también se pueden formar teniendo, si se desea, un centro básico presente adicional. Los compuestos de las fórmulas 1 a 12 que tienen al menos un grupo ácidos pueden formar sales con bases. Las sales adecuadas con bases son, por ejemplo, sales de metal, tal como sales de metales

alcalinotérreos, por ejemplo sales sodio, potasio, o magnesio, o sales con amonia o una amina orgánica. Tal como morfolino, tiomorfolino, piperidino, pirrolidina, o alquil amina mono-, di- o tri alquil aminina inferior, por ejemplo etil-terc-butilo, dietil-, diisopropil-, trietil-, tributil- o dimetilpropilamin, o un mono-, di-, o tri hidroxí alquiloamina inferior, por ejemplo mono-, di- o trietanolamina. También se pueden formar adicionalmente sales internas. Las sales que no son adecuadas para uso farmacéutico pero que se pueden emplear, por ejemplo, para el aislamiento de purificación de los compuestos de las formulas 1 a 12 o sus sales farmacéuticamente aceptables, también están incluidos.

[0051] Los esteres farmacéuticamente aceptables se refieren a los esteres que son farmacéuticamente aceptables y tienen las propiedades farmacológicas deseadas. Los esteres farmacéuticamente aceptables incluyen esteres formados de carboxi, sulfoniloxi, y fosfonoxi presentes en los compuestos, por ejemplo, alquil ésteres C₁₋₆. Cuando existen dos grupos ácidos presentes, un éster farmacéuticamente aceptable puede ser un mono acido mono éster o un di-éster; o similarmente cuando son mas de dos los grupos ácidos presentes, algunos o todos lo grupos se pueden esterificar.

[0052] Como se utilizan de acuerdo con esta dimensión, el término "suministrar", con respecto a suministrar un compuesto de sustancia cubierto por esta dimensión, significan administrar directamente tal compuesto o sustancia, o administrar una

0 145
149

prodrga, derivado, con algo que formará la cantidad efectiva de compuesto o sustancia dentro del cuerpo.

[0053] Ciertos de los compuestos de las fórmulas 1 a 12 contienen átomos de carbono estereogénico u otros elementos quirales y son así origen, a estereoisómeros, que incluyen enantiómeros y diastereómeros. Todos los estereoisómeros de los compuestos de la presente invención están contemplados, en mezcla o en forma pura o sustancialmente pura. La definición de los compuestos de acuerdo con la invención abarca todos los posibles estereoisómeros y sus mezclas. A través de esta solicitud, el nombre del producto, donde la configuración absoluta del centro asimétrico no se indica está destinado a abarcar los estereoisómeros individuales así como las mezclas de los estereoisómeros.

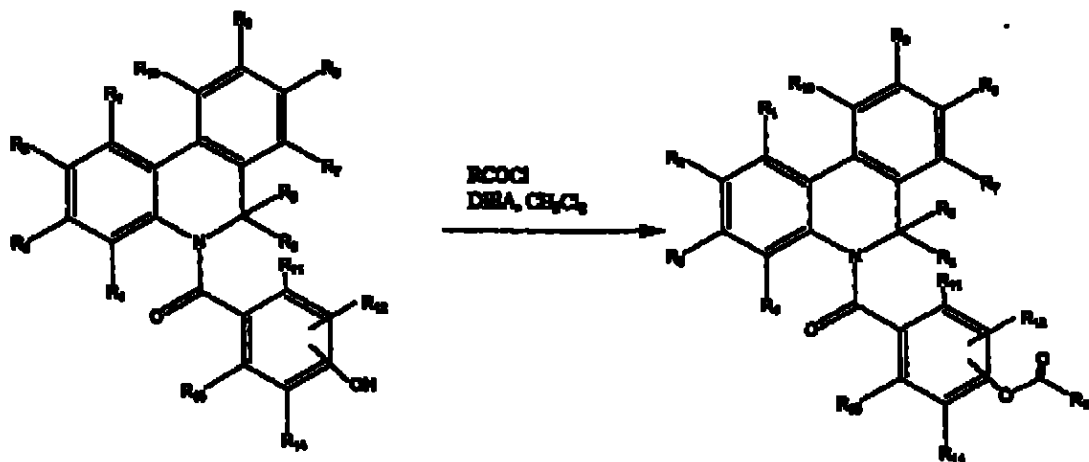
[0054] Donde se prefiere un enantiómero (una combinación particular de enantiómeros), está puede como en algunas modalidades, ser suministrada sustancialmente libre de los enantiómeros correspondientes. Así, enantiómeros sustancialmente libre del enantiómero correspondiente se refiere a un compuesto que se aísla o se separa por vía de técnicas de separación o se prepara libre del correspondiente enantiómero. "sustancialmente libre", como se utiliza aquí, significa que los compuestos se hacen de una proporción significativamente mayor de un enantiómero. En algunas modalidades preferidas, el compuesto se hace de al menos aproximadamente 90% en peso de un enantiómero preferido. En otras modalidades de la invención, el compuesto se hace de al menos aproximadamente 99 % en peso de un enantiómero

... 0 145
50.

preferido. Los enantiómeros preferidos se pueden aislar de mezclas racémicas mediante cualquier método conocido por aquellos expertos en el arte, que incluyen cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) y la formación y cristalización de sales quirales, o los enantiómeros preferidos se pueden preparar mediante los métodos descritos aquí. Las formulas racémicas se resolver mediante métodos físicos, tales como, por ejemplo, cristalización y fraccional, separación o cristalización de derivados de diastereoméricos o separación mediante cromatografía de columna quiral. Los isómeros ópticos individuales se pueden obtener de los racematos mediante métodos convencionales, tales como, por ejemplo, formación de sal con el ácido óptimamente activo seguido por la cristalización. Los métodos para la preparación de las modalidades preferidas se describen, por ejemplo, en jacques, et al., tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, E.L. stereochemistry of Carbon Compuounds (MacGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, S.H. Tables of Resolving Agents and Optical REsolutions p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. Of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972) y para todos los propósitos. De acuerdo con esto, la presente dimensión abarca las formas racémicas de los compuestos reivindicados y los isómeros ópticos aislados que tiene la actividad especificada aparte.

[0055] Se debe entender que la presente dimensión incluye las formas de prodroga de los compuestos y formulas 1 a 12. Varias formas de prodroga son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo de tales derivados de prodroga, ver: (a) Desing of Prodrugs, edited by H. Bundgaard (Elsevier, 1985); y Methods in Enzymology, Vol. 42 pp. 309-396, edited by K. Widder et al., (Academia Press,

1985); (b) A textbook of Drug Design and Development, edited by Krosgaard - Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," by H. Bundgaard, pp. 113-191 (1991); (c) H. Bundgaard, Advanced Drug Deliver Reviews, 8, pp. 1-38 (1992); (d) H. Bundgaard et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77,285 (1988); y (e) N. Kayeka et al., Chem. Phar. Bull., 32, 692 (1984), cada una de las cosas se incorpora aquí como referencia en su totalidad para todos los propósitos. Por ejemplo, un esquema representativo para sintetizar una prodroga de ejemplo de la presente invención es como sigue:



[0056] Los solvatos (por ejemplo, hidratos) también están dentro del alcance de la presente invención. Los métodos de solvatación son generalmente conocidos en la técnica. De acuerdo con esto, los compuestos de la presente invención pueden estar en forma libre o de hidrato y se pueden obtener mediante los métodos ejemplificados con los siguientes esquemas de adelante.

[0057] Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por aquellos expertos en la técnica de la síntesis orgánica empleando métodos convencionales que utilizan reactivos

y materiales de partida fácilmente disponibles. Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de materiales de partida comercialmente disponibles, los compuestos conocidos en la literatura, o los intermedios fácilmente preparados, al emplear métodos sintéticos estándar y procedimientos conocidos por aquellos expertos en la técnica. Los métodos sintéticos estándar y los procedimientos para la preparación de las moléculas orgánicas y las transformaciones del grupo funcional y las manipulaciones se pueden obtener fácilmente de la literatura científica relevante o de los libros estándar en el campo. Aunque no están limitados a ninguna o varias fuentes, los textos clásicos tales como Smith, M.B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001; and Greene, T.W.; Wuts, P. G.M. *Protective Groups in Organic Síntesis*, 3rd ed.; John Wiley & Sons: New York, 1999 son textos de referencia útiles y reconocidos de síntesis orgánica conocidos por aquellos expertos en la técnica. Los siguientes esquemas sintéticos son diseñados para ilustrar, pero no limitar, los procedimientos generales para la preparación de compuestos representativos de la presente invención. El practicante experto sabrá como hacer uso de variantes de estas etapas de proceso.

[0058] En el esquema I los compuestos se pueden preparar convenientemente de una fenantridina apropiadamente sustituida. Una preparación general de la fenantridina se describe por M. Lysen, J.L Kristensen, M. Begtrup; *Organic Letters*, 2002. 4, 257. Otros varios métodos de preparación de la fenantridinas sustituidas son conocidos en la literatura (ver P.K. PATRA, J.R.

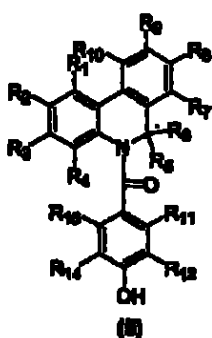
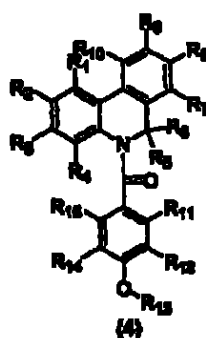
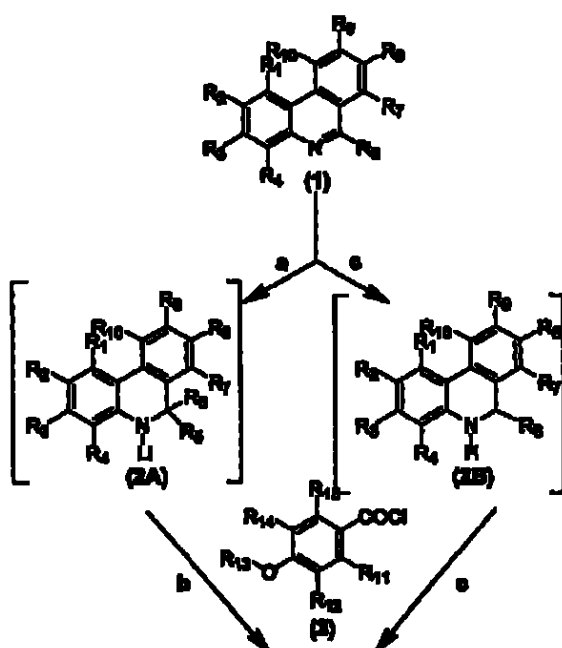
Zurres, H. Ila, H. Junjappa, Tetrahedron, 1998, 54, 10167). En el esquema I, etapa a, una fenantridina adecuadamente sustituida (1), o comercialmente disponible, conocida de la literatura preparada de acuerdo a los métodos conocidos y establecidos para dichas fenantridinas, incluyen los esquemas descritos adelante; en donde, R_1 a R_{15} están aquí antes definidos, reaccionan con un reactivo R_5 -Li, o comercialmente disponible, conocido de la literatura, o preparado de acuerdo a métodos conocidos y establecidos en la formación de reactivos de litio, en un solvente adecuado, tal como dietil éter, tetrahidrofurano, 1-4 dioxano, o similares, a temperaturas ente -78°C y temperatura grado ambiente. La sal de amida de litio (2A) reacciona in situ con un cloruro de benzilo adecuadamente sustituido (3) o comercialmente disponible, conocido la literatura, o preparado de acuerdo a los métodos conocidos y establecidos para la preparación de dichos cloruros de benzilo. Alternativamente, la fenantridinas adecuadamente sustituidas se reducen in situ a la dihidrofenantridina intermedia (2B) en la presencia de un cloruro de benzilo adecuado (3), como se describió previamente, en un solvente no reactivo, tal como dietil éter, tetrahidrofurano y similar, a temperaturas entre -78°C y temperatura ambiente para suministrar el fenal protegido (4). Un metil éter (4); en donde, R_{13} es un grupo metilo, puede ser desmetilado en la etapa de fenol correspondiente (5) hacer reaccionar (4) con tribromuro de boro en la presencia de un exceso de olefina o clicloolefina, tal como ciclohexeno, que actúa como un absorbedor y bromuro de hidrógeno, en un solvente adecuadamente halogenado como cloroformo, 1,2- dicloroetano, diclorometano, y similares alternativamente, el metil éter (4) puede ser desmetilado a fenol

(5) al reaccionar (4) con tricloruro de Boro, en la presencia de yoduros de amonio cuaternario, tal como yoduro de tetrabutilamonio, en un solvente adecuadamente halogenado tal como cloroformo, 1,2 - dicloroetano, o diclorometano y similares, a temperaturas entre -78°C y temperatura ambiente durante dos a veinte cuatro horas.

[0059] Si R_{13} es un grupo progenitor benzilo o difenimetilo, la remoción mediante técnicas de hidrogenólisis adecuadamente compatibles conocidas en la literatura para efectuar tales transformaciones, tales como hidrogeno y catálisis de paladio al 5% lograran el fenol deseado (5).

[0060] Si el $-\text{OR}_{13}$ es una porción carbonato, del tratamiento de (4) con una solución de hidróxido de sodio en metanol estéticamente de 40°C a 75°C , durante una longitud de tiempo típicamente aproximadamente 12 horas, removerán el producto protector para lograr el fenol deseado (5)

ESQUEMA I



a. R_5Li , solvante de éter, $-78^{\circ}C$ a TA; b. (3) a $-78^{\circ}C$ a TA (3), DIPEA, THF; o cuando $R_5=H$ $(CH_3)_2-BH_3$, (S) -2 -metil -CBS-oxazaborolidino, THF d. Cuando R_{13} es metilo: BBr_3 , ciclohexeno,

P 152
156

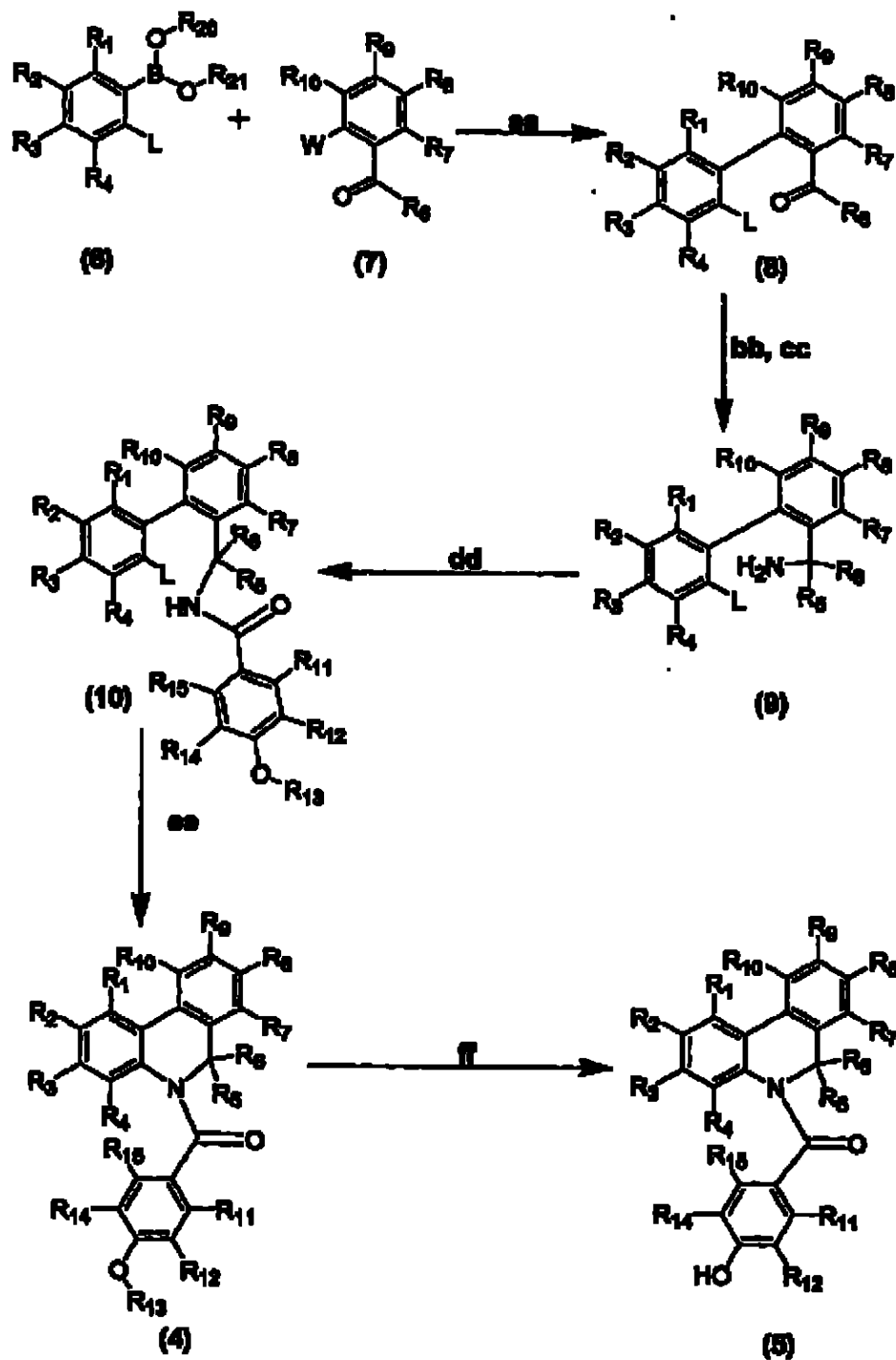
cloruro de metileno, 2-24h, (cuando $R_5=H$, resolución de HPLC quiral preparativos)

[0061] En el esquema II, etapa A, un ácido o éster o arilborónico adecuadamente sustituido (6), comercialmente disponible, conocido en la literatura, o preparado de acuerdo a los métodos conocidos y establecidos por la preparación de dichos ácidos arilborónicos o esteres, que incluyen procedimientos ejemplificados en la sección experimental de esta solicitud; en donde, L es un átomo de fluoro cloro, R_1 a R_{15} son aquí antes definidos y R_{20} y R_{21} pueden ser hidrógeno, alquilo inferior o alquilo puenteado, en la presencia de un catalizador acoplante, reacciona con una alquil arilcetona adecuadamente sustituida (7), comercialmente disponible conocida en la literatura, o preparada de acuerdo a métodos conocidos y establecidos para la prelación de dichas alquilricetonas, incluyendo los procedimientos identificados de la sección experimental de esta solicitud; en donde, W y R_6 AR₁₀ están aquí antes definidos. La bifenilcetona (8), reacciona en la etapa bb con una fuente de amonio, tal como cloruro de amonio o acetato de amonio, y similares, comercialmente disponibles o conocidos en la literatura, en un solvente adecuado, tal como metanol, tolueno, tetrahidrofurano, 1,2-dicloroetano, y similares, opcionalmente en la presencia de un catalizador ácido como ácido p-tolurosulfónico o p-toluenosulfonato de piridinio, seguido en una segunda etapa cc por la reducción de la imina intermedia con una fuente de hidruro aceptable, tal como cianoborohidruro de sodio, borohidruro de sodio, aluminio, hidruro de litio, o hidruro de diisobutil aluminio, o similar. La imina intermedia se puede aislar o no

aislar. La base conjugada de un nucleofílico R_3 adecuado, tal como metilitio Pert-butilitio, y similares, se pueden sustituir por la fuente de hidruro para lograr la bifenilamina terciaria como el producto de la etapa cc. La bifenilamina (9) se puede separar en sus respectivos enantiómeros (9S) y (9R) al someter (9) a una separación quiral analítica, una resolución enzimática o química, o una síntesis en angioespecífica de novo de (9S) o (9R) de acuerdo a los métodos conocidos y establecidos en la literatura para la síntesis en anti específica de las amins bencílicas. La resolución química de (9), es llevada acabo al emplear un ácido quiral adecuado, comercialmente disponible conocido en la literatura, de acuerdo a los métodos conocidos y establecidos para la resolución de amins bencílicas. La bifenil amina (9), como el racemato o el enantioméricamente pura, o reacción a nuevo de la etapa dd con cloruro ácido o anhídrido, en un solvente adecuado tal como acetonitrilo, 1,2- dicloroetano o diclorometano, y similares, opcionalmente en la presencia de un absorbedor de ácido tal como trietilamina, diisopropiletilamina, piridina, o bicarbonato de potasio y similares, y opcionalmente adicional en la presencia de un promotor o catalizador acilación conocido, tal como 4-(N-N-dimetilamida) piridina a -20°C temperatura ambiente durante varias horas. En la etapa ee, el tratamiento de la carboxamida (10) con hexametildisilamida de liquido a potasio, LDA, y similares, comercialmente disponibles, o conocidos en la literatura en un solvente adecuado tal como tetrahidrofurano a 70°C durante 24-48 horas lograron la fenantridina (4). El fenal protegido puede ser sub protegido en la etapa ff a fenol (5) como se describió previamente.

158

ESQUEMA II



aa. $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, K_2CO_3 , bromuro de tetrabutylammonio, THF, 60°C , 2 - 12 h; bb. NH_4OAc , MeOH, 60°C ; c.c.. cuando R_5 es hidrógeno, NaCNBH_3 , MeOH, 60°C , 12h; dd.

El ArCOCl en don R_{13} es metilo, trietilamida, CH_2Cl_2 , 2-12h; ee, KHMDS , THF, 70°C , 16h; ff. Cuando R_{13} es metil: BBr_3 , ciclohexeno, diclorometano, 2-24h.

0 155 159

[0062] En las modalidades preferidas, la presente dimensión se relaciona con métodos para tratar un sujeto que comprende la etapa de suministrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un ligando que modula el factor de transcripción NF- κ B mediante la interacción con un receptor de estrógeno ER- α , un receptor de estrógeno ER- β , o ambos receptores de estrógeno ER- α y ER- β , preferiblemente con una ausencia sustancial de estimulación de creatina quinasa. En ciertas modalidades preferidas, la administración es con ausencia sustancial de una actividad uterotrópica. Los compuestos preferidos de la presente dimensión modulada y factor de transcripción NF- κ B mediante la interacción con receptor de estrógeno ER- α , receptor de estrógeno ER- β , o ambos receptores de estrógeno ER- α y ER- β preferiblemente con una ausencia sustancial de una estimulación de creatina quinasa.

[0063] Los compuestos preferidos de la presente invención modulan, por ejemplo, inhiben la expresión de citoquina. Por ejemplo, los compuestos preferidos inhiben la actividad NF- κ B y así la expresión de Il-6. De acuerdo con esto, los compuestos preferidos de invención poseen actividad antiinflamatoria y los compuestos antiinflamatorios útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas con la citoquina implementada, por ejemplo la absorción de Il-6, tal como enfermedad inflamatoria crónica. En una modalidad particularmente preferida, los compuestos de la presente dimensión no inducen la expresión de creatina quinasa y de acuerdo con esto, a diferencia de los estrógenos clásicos, no estimulan la proliferación celular uterina y de mama.

[0064] Los compuestos de acuerdo con la presente dimensión tienen propiedades farmacológicas que se pueden confirmar mediante un número de ensayos farmacológicos, que incluyen el Il-6 y los ensayos de creatinina quinasa descritos en el ejemplo de la presente sección. Preferiblemente los compuestos de la presente dimensión se pueden utilizar para tratar enfermedad inflamatoria crónica tales como arteriosclerosis, infarto del miocardio (MI), falla congestiva cardiaca (CHF), enfermedad inflamatoria del intestino, por ejemplo, colitis ulcerativa y enfermedad de crohn, y artritis, por ejemplo artritis reumatoide, y otras enfermedades y condiciones que influyen aquellas descritas aquí. Para los propósitos de la presente invención, una enfermedad inflamatoria crónica es cualquier enfermedad caracterizada por la inflamación crónica.

[0065] Los compuesto preferidos de esta dimensión son útiles para tratar la osteoporosis en la inhibición de la desmineralización de hueso, que puede dar como resultado en un desbalance de una formación de individuos de nuevos tejidos de hueso y la reabsorción de los tejidos mas viejos, conduciendo a una perdida neta de hueso. Tal vaciamiento del hueso resulta en un rango de individuos, particularmente en mujeres post-menopáusicas, mujeres que han sufrido ooforectomía bilateral, aquellas que reciben o quienes han recibido terapias de corticosteroides prolongadas, aquellas que experimentan disgénesis gonadal y aquellas que sufren de síndrome de Cushing. Las necesidades especiales para los huesos, incluyen dientes y huesos orales, el reemplazo también se puede dirigir utilizando

2.13
162

periférica, restenosis, y baso espasmo, e inhibiendo el daño de pared vascular de los eventos celulares que conducen hacia el daño vascular mediado inmune.

[0068] Los compuestos preferidos de la presente invención también son útiles para tratar desordenes asociados con la inflamación de las o las enfermedades auto inmunes, que incluyen la enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, colitis indeterminada), artritis (artritis reumatoide, espondiloartropatías, osteoartritis), pleurisia, isquemia, repercusión (por ejemplo, ataque, o rechazo por trasplante, infarto del miocardio, etc), asma, artritis celular gigante, prostatitis, uveitis, soriasis, esclerosis múltiple, lupus sistémico eritomatoso y sepsis.

[0069] Los compuestos preferidos de la presente invención también son útiles para tratar desordenes oculares que incluyen cataratas, uveitis, y degeneración macular y para tratar condiciones de la piel tales como envejecimiento, alopecia, y acne.

[0070] Los compuestos preferidos de la presente invención también son útiles para tratar desordenes metabólicos tales como diabetes tipo II, del metabolismo de lípidos, apetito (por ejemplo anorexia nerviosa y bulimia).

[0071] Los compuestos preferidos de la presente invención también son útiles para tratar desordenes de sangrado tales como

... 0 154
163

telangiectasia hemorrágica hereditaria, sangrado uterino disfuncional y combatir el choque hemorrágico.

[0072] Los compuestos preferidos de la presente invención son útiles en estados de enfermedad donde la emenoreea es ventajosa, tales como la leucemia, a ablaciones endometriales, enfermedades renal y hepática crónica o enfermedades o desordenes de la coagulación.

[0073] Los compuestos de la presente invención se pueden administrar a un sujeto para una variedad de propósitos. Excepto cuando se anota como en los términos "sujeto" o "paciente", son utilizados intercambiabilmente y se refieren a todas las especies de mamífero. Por ejemplo, el término incluye los mamíferos tales como los pacientes humanos y los primates no humanos, así como también los animales experimentales tales como los conejos, ratas, y ratones, y otros animales. De acuerdo con esto, el término "sujeto" o "paciente", como se utiliza aquí significan cualquier paciente mamífero o sujeto al cual los compuestos de la invención se pueden administrar. Los pacientes con el tratamiento de acuerdo con los métodos de la invención preferiblemente son identificados utilizando métodos de selección aceptados para determinar los factores de riesgo asociados con una enfermedad o condición blanco o sospechosa o para determinar el estado de una enfermedad de existente a una condición en un sujeto. Estos métodos de selección incluyen, por ejemplo, trabajos convencionales para determinar los factores de riesgo que pueden estar asociados con la enfermedad o condición blanco o sospechosa. Estos y otros métodos de rutina le permiten al

clínico seleccionar los pacientes necesitados de terapia utilizando los métodos y formulaciones de la presente invención. Un sujeto, necesitado de ello, es un sujeto que sufre o se sospecha que va a sufrir de cierta condición o estado de enfermedad tratable dentro de los métodos de la presente invención.

[0074] Como se utiliza aquí, el término "tratar" "tratamiento" se refiere a cualquier indicio de suceso o mejoramiento de un daño, patología o condición, que incluye cualquier objetivo o parámetro subjetivo tal como abatimiento, inhibición, remisión, disminución de síntomas o hacer el daño, patología o condición más tolerable al paciente; haciendo más lenta la tasa de degeneración o declinamiento; haciendo el punto final de degeneración discapacitante: o mejorando el bienestar físico o mental del sujeto. El tratamiento o mejoramiento de los síntomas puede estar basado en parámetros objetivos o subjetivos; incluyendo los resultados de un examen físico, examen neurológico, y/o evaluación psiquiátrica. "tratamiento" o "tratamiento de una enfermedad o condición caracterizado por inflamación crónica" incluye la prevención del ataque de síntomas en un sujeto que puede estar predispuesto a una enfermedad inflamatoria pero que aún no experimenta o inhibe los síntomas de la enfermedad (tratamiento profiláctico), inhibiendo los síntomas de la enfermedad (haciendo más lento o disminuyendo su desarrollo), suministrando alivio de los síntomas o efectos colaterales de la enfermedad (incluyendo el tratamiento paliativo) y/o aliviando los síntomas de la enfermedad (originando regresión). El tratar o el tratamiento de cualquier

enfermedad o condición descrita aquí incluye evitar el ataque de síntomas de un sujeto que puede estar predispuesto a dicha enfermedad o condición pero aún no experimenta o exhibe síntomas de la enfermedad o condición (tratamiento profiláctico), e inhibe los síntomas de la enfermedad o condición (haciendo más lento o disminuyendo su desarrollo), suministrando alivio de los síntomas u efectos colaterales de la enfermedad o condición (que incluye tratamiento paliativo), y/o aliviando los síntomas de la enfermedad o condición (originando regresión). De acuerdo con esto "el término" "tratar" incluye la administración de los compuestos o agentes de la presente invención a un sujeto para evitar o retrasar, aliviar, o disminuir o inhibir el desarrollo de los síntomas o condiciones asociadas con un estado de enfermedad. Un practicante médico experto sabrá como utilizar los métodos estándar para determinar si un paciente está sufriendo de una enfermedad caracterizada por una inflamación crónica y/o la expresión de citoquina incrementada.

[0075] "La administración concomitante" de una droga conocida o tratamiento con una composición farmacéutica de la presente invención significa la administración de la droga(o tratamiento) del compuesto de la presente invención en tal momento que ambas la droga conocida (o tratamiento) y la composición de la presente invención tendrán un efecto terapéutico. Tal administración concomitante puede involucrar la administración anterior a la administración concurrente (es decir al mismo tiempo), anterior, o subsecuente de la droga (o tratamiento) con respecto a la administración de un compuesto de la presente invención. Una persona experta en la técnica, no tendría dificultad en

determinar el tiempo, secuencia y dosis apropiada de administración para drogas particulares y composiciones de la presente invención. Por ejemplo los compuestos de la invención se pueden utilizar en combinación (administrar juntos o secuencialmente) con drogas conocidas útiles en el tratamiento o de la inflamación crónica.

[0076] La presente invención suministra composiciones que comprenden un compuesto de la presente invención en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una modalidad preferida, los compuestos se formulan como farmacéuticos a enfermedades asociadas con la inflamación crónica.

[0077] En general, los compuestos de la presente invención se pueden administrar como composiciones farmacéuticas por cualquier método conocido en la técnica para administrar drogas terapéuticas que incluyen oral, bucal, tópica, sistémica (por ejemplo transdérmica, intranasal, o mediante supositorio), o parenteral (por ejemplo inyección intramuscular, subcutánea o intravenosa). Las composiciones pueden tomar la forma de tabletas, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, emulsiones, malazas, elixires, aerosoles o cualquier otras composiciones apropiadas; y comprende al menos un compuesto de esta invención en combinación con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los excipientes adecuados así como también conocidos para las personas expertas en la técnica, y ellos y los métodos para formular las composiciones en tales preferencias estándar como Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed.,

Mack Publishing Company, Easton PA, 1985. Los vehículos líquidos adecuados, especialmente para soluciones inyectables, incluyen agua, solución salina acuosa, solución de dextrosa acuosa, y glicoles. En algunas modalidades de la presente invención, los compuestos de la presente invención adecuados para uso en la práctica de la invención se pueden administrar simple recombinación con al menos un otro compuesto de la invención. Los compuestos adecuados para uso en la práctica de la presente invención se pueden administrar con al menos otro agente terapéutico convencional para la enfermedad que está siendo tratada.

[0078] Las suspensiones acuosas de la invención pueden contener un compuesto de la presente invención en mezcla con excipientes adecuados para la elaboración de suspensiones acuosas. Tales excipientes pueden incluir, por ejemplo un agente de suspensión tal como carboximetil celulosa o de sodio, metil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma de acacia, y agentes dispersantes o humectantes tales como fosfátidos de ocurrencia natural (por ejemplo lecitina), un producto de condensación de un óxido alcalino con un ácido graso (por ejemplo) polioxietilen estearato), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetileno oxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol (por ejemplo, polioxietilen sorbitol mono-oleato), o un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de ácido graso y un alivido de hexitol (por ejemplo, polioxietileno

sorbitan mono-oleato). La suspensión acuosa puede también, por ejemplo contener uno o más preservativos tales como etilo o N-propilo, p- hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes endulzantes, tales como sucrosa, aspartama o sacarina. Las formulaciones se pueden ajustar para osmolaridad.

[0079] Las suspensiones en aceite se pueden formular al suspender un compuesto de la presente invención en un aceite vegetal, tal como aceite araquís, aceite de oliva, aceite de sésamo, o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida; o una mezcla de estos. Las suspensiones de aceite pueden contener un agente espesante, tal como cera de abejas, parafinas, parafina dura o cetil alcohol. Los agentes endulzantes se pueden agregar para suministrar una preparación oral apetitosa; tal como glicerol, sorbitol o sucrosa. Estas formulaciones se pueden preservar mediante la adición de un anti oxidante tal como ácido ascórbico. Como un ejemplo de un vehículo de aceite inyectable, ver Minto, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281:93-102, 1997. Las formulaciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal o aceite mineral descrito anteriormente o mezclas de estos. Los agentes emulsificantes adecuados incluyen, de ocurrencia natural, tales como goma de acacia y goma tragacanto, fosfaturos de ocurrencia natural, tales como lecitina de frijol de soya, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, tales como

polioxietylensorbital monooleato. La emulsión también pueden contener agentes endulzantes y agentes saborizantes, como en la formulación de amilasas y elixires. Tales formulaciones también pueden contener un desendulzante, un preservativo o un agente colorante. Tales formulaciones también pueden contener un desemulsificante, un preservativo, o un agente colorante.

[0080] Los compuestos de elección, solos o en combinación con otros componentes adecuados, pueden ser hechos en formulaciones de aerosol (es decir ellas pueden ser "nebulizados") para será administrados vía inhalación. Las formulaciones de aerosol se pueden colocar en propulsores aceptables tales como di cloro, di fluorometano, propano, nitrógeno y similares.

[0081] Las formulaciones adecuadas para administración parenteral, tales como, por ejemplo, mediante rutas intra articular (en las articulaciones), intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, incluye soluciones de inyección acuosas y no acuosas, isotónicas estériles, que pueden contener anti oxidantes, amortiguantes, bacteriostatos, y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizadores, y preservativos. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están la solución de Ringer, o un cloruro de sodio isotónico. Además, aceites fijos estériles y se pueden convencionalmente emplear como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo blando se puede emplear incluyendo mono o di glicéridos

sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico puede de manera similar ser utilizado en la preparación de inyectables. Estas soluciones son estériles y generalmente de materia indeseable. Donde los compuestos son suficientemente solubles ellos se pueden disolver directamente en solución salina normal con o sin el uso de solventes orgánicos adecuados, tales como propilenglicol o polietilenglicol. La dispersiones de compuesto finamente divididos se pueden hacer en solución de almidón acuoso o carboxi metilcelulosa de sodio, o en aceite adecuado, tal como, aceite de araquis. Estas formulaciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización, convencional, bien conocidas. Las formulaciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables como se requiera para las condiciones fisio orgánicas aproximadas tales como ajuste de ph y agentes de amortiguación, agentes de ajuste de toxicidad, por ejemplo, acetato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, lactato de sodio y similares. La concentración de los compuestos de la presente invención en estas formulaciones puede variar ampliamente y será seleccionada principalmente con base en los volúmenes de fluido, viscosidades, peso de cuerpo, y similares, de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado y las necesidades del paciente. Para la administración ID, las formulaciones puede ser una preparación inyectable estéril tal como una suspensión acuosa u oleaginoso inyectable de estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo a la técnica conocida utilizando aquellos agentes dispersantes i humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o

solvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como una solución de ,3-butanediol. Las formulaciones de encomendados pueden ser presentados en recipientes sellados de dosis unitaria o multi dosis, tales como ampolletas y frascos.

[0082] Las soluciones y suspensiones de inyección se pueden preparar de polvos estériles, gránulos, y tabletas de la clase previamente descrita.

[0083] Los compuestos adecuados parados en la práctica de esta invención se pueden administrar oralmente. La cantidad de un compuesto de la presente invención y la composición puede variar ampliamente dependiendo del tipo de composición, tamaño y dosis unitaria, clase de excipientes y otros factores bien conocidos por aquellos expertos en la técnica.

[0084] Las formulaciones farmacéuticas para la administración oral se pueden formular utilizando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosis adecuadas para la administración oral. Tales vehículos le posibilitan a las formulaciones farmacéuticas ser formuladas en formas de dosis unitarias como tabletas, píldoras, polvos, grageas, cápsulas., líquidos, genes, amilasas, lechadas, suspensiones, etc. adecuado para la ingestión por el paciente. Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden consistir de (a) soluciones líquidas, tales como una cantidad efectiva de ácido nucleico empacado suspendida en diluyentes, tales como agua, solución salina o PG 400; (b) cápsulas, sacos o tabletas, que contiene cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo, como

líquidos, sólidos gránulo; (c) suspensiones en un líquido apropiado; y (d) emulsiones adecuadas.

[0085] Las separaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener a través de la combinación de los compuestos de la presente invención con un excipiente sólido, opcionalmente moviendo una mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de agregar compuestos adicionales adecuados, si se desea, para obtener tabletas o núcleos de grageas. Los excipientes sólidos adecuados son carbohidrato o llenadores de proteína e incluye, pero no están limitados a azúcares, incluyendo lactosa, sucrosa, manitol o sorbitol; almidón proveniente de maíz, trigo, arroz, papa u otras plantas; celulosa tales como metil celulosa, hidroximetil celulosa, hidropropilmetil celulosa o carboximetil celulosa de sodio; que incluyen arabiga y tragacanto; así como también proteínas tales como gelatina y colágeno. Si se desea, los agentes desintegrantes o solubilizantes se pueden agregar, tales como polivinil pirrolidona reticulada, agar, ácido alginico, o una sal de estos, tal como alginato de sodio. Las formas de tableta pueden incluir una o más de lactosa, sucrosa, manitol, sorbitol, fosfatos de calcio, almidón de maíz, almidón de papa, celulosa micro cristalina, gelatina, dióxido de silicio coloidal, talco, estearato de magnesio ácido esteárico, y otros excipientes, colorantes, llenadores, ligantes, diluyentes, agentes amortiguantes, agentes humectantes, preservativos agentes saborizantes, tintes, agentes desintegrantes y vehículos farmacéuticamente compatibles. Las formas pueden comprender ingrediente activo en un sabor, por ejemplo, sucrosa, así como

también pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sucrosa y emulsiones de acacia., geles y similares que contienen además del ingrediente activo, vehículos conocidos en la técnica.

[0086] Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en la forma de supositorios para administración rectal de la droga. Estas formulaciones se pueden preparar al mezclar la droga con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a temperaturas rectales y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar las drogas. Tales materiales son manteca de cacao y polietilenglicoles.

[0087] Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar mediante rutas intranasal, intraocular, intravaginal, e intrarectal, incluyendo supositorios, insuflación, polvos y formulaciones en polvos, y aerosoles (por ejemplo de inhalantes y esteroides ver Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35:1187-1193, 1995; TjW&, Ann. Allergy Asthma Immunol. 75:107-111, 1995).

[0088] Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en formas de dosis de liberación sostenida o controlada (por ejemplo empleando un sistema de suministro bioerosionable de liberación lenta), que incluye inyecciones de depósito, bombas osmóticas (tales como el implante Alzet hecho por Alza), píldoras, parches transdérmicos y transcutáneos (que incluyen electro transporte), y similares, para la administración

prolongada a una tasa predeterminada, preferiblemente en formas de dosis unitarias adecuadas para la administración simple de dosis precisas. Las composiciones típicamente incluirán un vehículo o excipiente convencional farmacéutico y un compuesto de la invención. Además estas composiciones pueden incluir otros agentes, vehículos, adyuvantes, activos y similares.

[0089] Los compuestos de la presente invención se pueden suministrar transdérmicamente, mediante una ruta tópica, formulada como pegantes aplicadores, soluciones, suspensiones, emulsiones, geles, cremas, ungüentos, pastas, gelatinas, pinturas, polvos y aerosoles.

[0090] Los materiales encapsulantes también se pueden emplear con los compuestos de la presente invención y el termino "composición" está destinado a incluir el ingrediente activo en combinación con un material encapsulante como una formulación, con o sin otros vehículos, por ejemplo, los compuestos de la presente invención también se pueden suministra

[0091] En otra modalidad, los compuestos de la presente invención se pueden suministrar mediante el uso de liposomas que se funden con la membrana celular o son endocitosados. Al utilizar liposomas, particularmente, donde la superficie del liposoma lleva ligando específicas para células blanco, o son referencialmente de otra forma dirigidos a un órgano específico uno puede enfocar el suministro del compuesto en las células blanco in vivo. (Ver, por ejemplo, Al-Muhammed, J. Microencapsul.

13:293-306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6:698-708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46:1576-1587, 1989).

[0092] En otros casos, la preparación preferida puede ser un polvo liofilizado que puede contener, por ejemplo, cualquiera de los siguientes: 1 mM-50 de histidina, 0.1%-2% de sucrosa, 2%-7% manitol, a un rango de pH 4.5 a 5.5, que es combinado con amortiguador antes de uso.

[0093] Una composición farmacéutica de la invención puede contener opcionalmente, además de un compuesto de la presente invención, al menos otro agente útil en el tratamiento de una enfermedad o condición asociada con inflamación crónica.

[0094] Las composiciones farmacéuticas son generalmente formuladas como estériles, sustancialmente isotónicas y en cumplimiento completo con las reglamentaciones de buena práctica de manufactura (CPL) en la administración de alimentos y drogas de los Estados Unidos.

[0095] La presente invención suministra inter alia, métodos para inhibir la expresión de citoquina, por ejemplo, la expresión IL-6, en un sujeto para el tratamiento de enfermedades y condiciones asociadas con la actividad de citoquina incrementada. En una modalidad de ejemplo de la presente invención, el practicante experto tratará un sujeto que tiene una enfermedad asociada con inflamación crónica con los compuestos de la presente invención.

0 11.1
176

[0096] Para propósitos de tratamiento, las composiciones o compuestos descritos se pueden administrar a un sujeto en un suministro simple por vía de suministro continuo (por ejemplo suministro transdérmico, mucosal, o intravenoso continuo) durante un periodo prolongado de tiempo, o en un protocolo de administración repetido (por ejemplo en un protocolo de administración repetido por hora, día o semana). La formulación farmacéutica de la presente invención se puede administrar, por ejemplo, una o más veces diariamente, tres veces por semana, o semanalmente. En una modalidad de ejemplo de la presente invención, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son administradas oralmente una o dos veces diarias.

[0097] En este contexto, la dosis terapéuticamente efectiva de los agentes biológicamente activos pueden incluir dosis repetidas dentro de un régimen de tratamiento prolongando que producirá resultados clínicamente significativos para aliviar uno o más síntomas o condiciones detectables asociadas con actividad citoquina creciente. La determinación de las dosis efectivas en este contexto está típicamente basada en estudios de modelo animal seguidos por ensayos clínicos en humanos y es guiado al determinar las dosis efectivas y los protocolos de administración que reducen significativamente la ocurrencia o severidad de los síntomas de exposición al blanco o condiciones en el sujeto. Los modelos adecuados a este respecto incluyen por ejemplo, murino, rata u otros sujetos modelos de animal aceptados conocidos en la técnica. Alternativamente, las dosis efectivas se pueden determinar utilizando modelos in Vitro. Utilizando tales modelos, solamente los cálculos ordinarios y los ajustes se requieren

177

típicamente para determinar una concentración apropiada y dosis para administrar la cantidad terapéuticamente efectiva de los agentes biológicamente activos (por ejemplo las cantidades que son intranasalmente efectivas, transdérmicamente efectivas, intravenosamente efectivas, o intramuscularmente efectivas para incitar una respuesta deseada). En modalidades alternativas, una "cantidad efectiva" o "dosis terapéuticamente efectiva" o "dosis farmacéuticamente efectiva" de el o los agentes biológicamente activos simplemente inhibirá o mejorará una o más de las actividades biológicas seleccionadas o relacionadas con una enfermedad o condición, como se estableció anteriormente, para propósitos terapéuticos o de diagnóstico.

[0098] La dosis actual de Los agentes biológicamente activos variará por supuesto de acuerdo a factores tales como la extensión de la exposición y el estado particular del sujeto (por ejemplo la edad, tamaño, estado, extensión de los síntomas, factores de susceptibilidad del sujeto, etc.) el tiempo y ruta de administración, así como también otras drogas o tratamientos que son administrados concurrentemente. Los regímenes de dosis se pueden ajustar para suministrar una respuesta profiláctica o terapéutica óptima. Por "dosis terapéuticamente efectivas" o "respuesta profiláctica o terapéutica óptima". Por "dosis terapéuticamente efectivas o "dosis farmacéuticamente efectivas" se significa una dosis que produce efectos para los cuales se administra. Más específicamente, una dosis terapéutica o farmacéuticamente efectiva del o los compuestos de la invención preferiblemente mide los síntomas, complicaciones, o indicios bioquímicos de enfermedades asociadas con actividades citoquinas

incrementada. La dosis exacta dependerá del propósito del tratamiento, y será averiguado por un experto en la técnica utilizando técnicas conocidas (ver, por ejemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (VoIs. 1-3, 1992); Lloyd, 1999, The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding; and Pickar, 1999, Dosage Calculations). Una dosis terapéuticamente efectiva o una dosis farmacéuticamente efectiva es también una de la cual cualquier efecto colateral tóxico o de detrimento del agente activo es pre ponderado en términos clínicos por los efectos terapéuticamente benéficos. Se debe notar además que para cada sujeto particular, los regímenes de dosis específicos se deben evaluar y ajustar durante el tiempo de acuerdo a las necesidades individuales y al juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de los compuestos.

[0099] En una modalidad de ejemplo de la presente invención las formas de dosis unitarias de los compuestos se preparan para los regímenes de administración estándar. De esta manera, la composición se puede sub dividir en dosis más pequeñas bajo la dirección de los médicos. Por ejemplo, las dosis unitarias se pueden hacer en polvos empaquetados, frascos o ampollas en preferiblemente una forma de cápsula o tableta.

[0100] Se entiende que la dosis efectiva los compuestos activos de esta invención pueden variar dependiendo de in compuesto particular utilizado, el modo de administración, la condición y la severidad de estos, de las condiciones a ser tratadas, así como también los varios factores físicos relacionados con el individuo a ser tratado. Para tratar la

ateroesclerosis, el infarto de miocardio, la falla cardiaca congestiva, la artritis y/o la enfermedad inflamatoria del intestino, se obtienen generalmente resultados satisfactorios, por ejemplo, cuando los compuestos de esta invención se administrar al hibrido necesitado de un dosis diaria de aproximadamente 0.1 g a aproximadamente 1 mg por kilogramo de peso de cuerpo, preferiblemente administrado en dosis divididas dos a seis veces por día o en una forma de liberación sostenida. Para la mayoría de los mamíferos grandes, la dosis diaria totales, por ejemplo, desde aproximadamente 3.5 mg a aproximadamente 140 mg, preferiblemente desde aproximadamente 3.5 a aproximadamente 5 mg. En el caso de un adulto humano de 70 Kg, la dosis diaria total generalmente será de aproximadamente 7 mg a aproximadamente 70 mg y se puede ajustar para suministrar el resultado terapéutico óptimo.

[0101] Después de que un farmacéutico que comprende un compuesto de la presente invención se ha formulado en un vehículo adecuado, este se puede colocar en un recipiente adecuado y marcar para tratamiento de, por ejemplo, un desorden asociado con inflamación crónica. Tradicionalmente, otro farmacéutico que comprende al menos otro agente terapéutico útil en el tratamiento del desorden asociado con la inflamación crónica se puede colocar en el recipiente así como también marcar para tratamiento de la enfermedad indicada. Alternativamente, un farmacéutico simple que comprende un compuesto de la presente invención y al menos otro agente terapéutico útil en el tratamiento de un desorden asociado con la inflamación crónica se puede colocar en un recipiente apropiado y marcar para tratamiento. Para la administración de

... 0 1 1/2 180

farmacéuticos que comprenden compuestos de la presente invención y de farmacéuticos que comprenden, en un farmacéutico simple, compuestos de la presente invención y al menos otro agente terapéutico útil en el tratamiento del desorden asociado con la inflamación crónica, tal marcación incluiría, por ejemplo, instrucciones relacionadas a la cantidad, frecuencia y método de administración. De manera similar para la administración de farmacéuticos múltiples suministrados en el recipiente, tal marcación incluiría, por ejemplo, instrucciones relacionadas a la cantidad, frecuencia y método de administración.

EJEMPLOS

[0102] **Ejemplo 1:** síntesis de 4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil} fenol

[0103] **Etapa A:** 8-fluoro-5-(4)-metoxibenzil)-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina (0.05 g, 0.23 mmol), cloruro de 4-metoxi benzil (0.04 g, 0.23 mmol) y 0.08 mL de diisopropiloetilamina en 5 mL de THF se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó con (Na₂SO₄). La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.05 g, 40% de rendimiento. MS (ESI) m/z 348 ([M+H]⁺)

[0104] Etapa B: 4-[[[(6R-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol - a una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(4-metoxi benzil)-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina (2.3 g, 6.6 mmol) en 50 mL de cloruro de metileno que contiene 2.0 mL de ciclohexano bajo atmósfera de N₂ se agregó tribromuro de boro (2.9 mL, 26 mmol). A la reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitarse durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro se descompuso mediante una adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particiona con HCl 2N. La fase orgánica se separó y se concentró in vacuo. El producto de residuo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno/etilacetato, 19:1) para proporcionar 1.85 g del racemato. El isómero preparado mediante HPLC (Chiralcel AD, 25X5 cm, 100% EtOH, 12 mL/min) para dar 0.536 g del producto como ^oC, 99.86% ee); un sólido blanco (m.p. 165 [α]_D²⁵ = -756° (c = 0.010G/ML, MeOH); ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0.86 (s, 1 H) 1.19 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 5.74 (q, J=6.73 Hz, 1 H) 6.65 (d, J=8.79 Hz, 2 H) 6.68 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.05 (dt, J=7.70, 1.42 Hz, 1 H) 7.12 (d, J=8.54 Hz, 2 H) 7.18 (m, 1 H) 7.27 (td, J=8.79, 2.85 Hz, 1 H) 7.38 (dd, J=9.31, 2.85 Hz, 1 H) 7.91 (dd, J=7.76, 1.55 Hz, 1 H) 8.04 (dd, J=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.96 (s, 1 H); .MS (ESI) m/z 334 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 332 ([M-H]⁻);

[0105] Ejemplo 2: Síntesis de 3- [[[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil] fenol.

[0106] Etapa A: 8-fluoro-5-(3-metoxi benzil)-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina (0.05 g, 0.23 mmol), cloruro de 3-nietoxibenzilo (0.033 mL, 0.23 mmol) y 0.08 mL de diisopropiloetilamina en 5 mL de THF se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó (Na₂SO₄). La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.045 g, 56% de rendimiento). MS (ESI) m/z 348 ([M+H]⁺).

[0107] Etapa B: 3-((6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-ilcarbonilfenol - a una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(3-metilbenzil)-6-metil-5,6-dihidro fenantridina (0.39 g, 1.1 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.5 mL de ciclohexano bajo atmósfera de N₂ se agregó tribromuro de boro (0.495 mL, 4.48 mmol). A la reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitarse durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro se descompuso mediante una adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particionó con HCl 2N. La fase orgánica se separó y se concentró in vacuo. El producto de residuo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno/etilacetate, 19:1) para proporcionar el producto (0.318 g, 85% de rendimiento) como un sólido blanco. El enantiómero puro se aisló mediante HPLC (Xterra MS C1 8, etanol/hexano 1 : 1) para dar el producto como un sólido blanco (0.047 g, 97.6% ee). mp

sinters 92, fusión 138 °C; $[\alpha]_{D25} = +484^{\circ}$ ($c = 0.010\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.76 (amplio s, 1 H) 6.65 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 6.66 (s, 1 H) 6.79 (m, 2 H) 7.08 (m, 2 H) 7.21 (dt, 2 H) 7.28 (dt, 1 H) 7.38 (dd, 1H) 7.91 (dd, $J=7.76$, 1.29 Hz, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) $J=8.79$, 5.43 Hz, 1 H) 9.59 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0108] Ejemplo 3: Síntesis de 4- (((6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil) fenol. Isómero preparado mediante HPLC de la mezcla de reacción del ejemplo 1 (Chiralcel AD, 25X5 cm, 100% EtOH, 12 mL/min) para dar 0.542 g, 99.9% ee); Δ_g de el producto como un sólido blanco (m.p. 175 $[\alpha]_{D25} = +562^{\circ}$ ($c = 0.0101\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.75 (q, $J=6.64$ Hz, 1 H) 6.65 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 6.68 (d, $J=8.28$ Hz, 1 H) 7.05 (dt, $J=7.70$, 1.42 Hz, 1 H) 7.12 (m, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.19 (dt, 2 H) 7.27 (dt, $J=8.79$, 2.85 Hz, 1 H) 7.91 (dd, $J=7.76$, 1.29 Hz, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) $J=8.79$, 5.43 Hz, 1 H) 9.97 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0109] Ejemplo 4: Síntesis de 3- (((6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol. El enantiómero puro se ligó mediante HPLC quiral (Xterra MS C18, etanol/hexano 1:1) para dar el producto como un sólido blanco (0.20 g, 99.8% ee). mp 162 °C; $[\alpha]_{D25} = -566^{\circ}$ ($c = 0.010\text{G/ML}$, MeOH); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=5.73$ Hz, 3 H) 5.75 (amplio s, 1 H) 6.65 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 6.66 (m, 1 H) 6.79 (m, 2 H) 7.08 (m, 2 H) 7.21 (dt, 2 H) 7.28 (dt, 1 H) 7.38 (dd, 1H) 7.91 (dd, $J=7.76$, 1.29 Hz,

0 131
124

1 H) 8.04 (dd, 1 H) $J=8.79, 5.43$ Hz, 1 H) 9.59 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[M-H]^-$); Anal, calculado para $C_{21}H_{16}FNO_2 \cdot 0.20 H_2O$: C:74.85 H:4.91 N:4.16 Encontrado: C:74.74 H:4.88 N:3.87.

[0110] Ejemplo 5: Síntesis de 3-fluoro-4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil)fenol

[0111] Etapa A: 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-metoxi benzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridina (0.211 g, 1.0 mmol) y cloruro de 2-fluoro-4-metoxi benzil (0.253 g, 1.35 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno se agregó lentamente durante 1 hora a una solución agitada de complejo de borano-sulfuro de metilo 1M 1.0 mL en cloruro de metileno. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. la mezcla de reacción se particionó con NaOH. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó (Na_2SO_4). El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.127 g, 35% de teoría) MS (ESI) m/z 366 ($[M+H]^+$).

[0112] Etapa B: 3-fluoro-4-((6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil) fenol - a una solución enfriada a $-78^\circ C$ de 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-metoxi benzil)-6-metilo-5,6-dihidrofenantridina (0.111 g, 0.3 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.2 mL de ciclohexano bajo atmósfera de N_2 se agregó tribromuro de boro(0.11 mL, mmol). A la reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitarse durante toda la

noche. El exceso de tribromuro de boro se descompuso mediante una adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particionó con HCl 2N. La fase orgánica se separó y se concentró in vacuo. El producto de residuo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno/etil acetato, 19:1) para proporcionar 0.10 g del racemato. el isómero separado mediante HPLC prequiral (Pirkle Covalent (R5R) Whelk-01, 250X4.6 mm, EtOH/hexano 1:1) para dar 0.038 g de el producto como un sólido blanco (99.8% ee) $[\alpha]_{D25} = -409^\circ$ (c = 0.010G/ML, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.17 (d, 3 H) 5.81 (amplio s, 1 H) 6.34 (amplio s, 1 H) 6.62 (amplio d, 1 H) 6.77 (amplio s, 1 H) 7.07 (amplio m, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.38 (dd, 1 H) 7.90 (dd, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) 10.35 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 350 ([M-H]⁻).

[0113] Ejemplo 6: Síntesis de 3-fluoro-4-([(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil}fenol

[0114] Aislado en el prep quiral anterior, como un sólido blanco (0.035 g, 99.8%ee). $[\alpha]_{D25} = +472^\circ$ (c = 0.0095G/ML, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.17 (d, 3 H) 5.8 (amplio s, 1 H) 6.35 (amplio s, 1 H) 6.62 (amplio d, 1 H) 6.77 (amplio s, 1 H) 7.07 (amplio m, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.38 (dd, 1 H) 7.90 (dd, 1 H) 8.04 (dd, 1 H) 10.35 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 350 ([M-H]⁻).

[0115] Ejemplo 7: Síntesis de 4-fluoro-3-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il] carbonil}fenol

[0116] Etapa A: 8-fluoro-5-(2-fluoro-5-metoxi benzil)-6-metil-5,6-dihidro fenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridina (0.268 g, 1.27 mmol) y cloruro de 2-fluoro-5-metoxi benzil (0.239 mg, 1.27 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno se agregó lentamente durante i hora a una solución agitada de (S)-2-metilo- CBS-oxazaborolidina (0.11 mL, solución 1M en tolueno) y complejo de borano- sulfuro de metilo (0.75 mL, 1M en cloruro de metileno). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó (Na_2SO_4). El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.250 g, 65% de teoría, e.e.= 37.6% de el isómero R); MS (ESI) m/z 366 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0117] Etapa B: 4-fluoro-3-(((6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil>fenol - a una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(2-fluoro-5-metoxi benzil)-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina (0.206 g, 0.57 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.5 mL de ciclohexano bajo atmósfera de N_2 se agregó tribromuro de boro (0.25 mL, 2.25 mmol). A la reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitarse durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro se descompuso mediante una adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particionó con HCl 2N. La fase orgánica se separó y se concentró in vacuo. El producto de residuo se

purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno/etil acetato, 19:1) para proporcionar 0.27 g del intermedio. El enantiómero finalmente puro se dio mediante HPLC quiral (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, etanol/hexano 1 : 1) para el producto como un sólido blanco (0.092 g, 99.94% ee). $[\alpha]_{D25} = -604^{\circ}$ (c = 0.010G/ML, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1.09 (s, 1 H) 1.18 (d, J=6.72 Hz, 3 H) 3.38 (s, 1 H) 6.77 (s, 1 H) 7.05 (s, 1 H) 7.26 (td, J=8.77, 2.59 Hz, 4 H) 7.40 (s, 2 H) 7.92 (d, J=7.49 Hz, 1 H) 8.02 (dd, J=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.62 (br. s, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 350 ([M-H]⁻).

[0118] Ejemplo 8: Síntesis de 4-fluoro-3-([(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6//)-il] carbonil}fenol.

[0119] Aislado de la preparación quiral anterior (0.033 g, 99.6% ee); $[\alpha]_{D25} = +594^{\circ}$ (c = 0.010G/ML, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 1.09 (s, 1 H) 1.18 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 3.38 (s, 1 H) 6.77 (s, 1 H) 7.05 (s, 1 H) 7.26 (td, J=8.79, 2.59 Hz, 4 H) 7.40 (s, 2 H) 7.92 (d, J=7.50 Hz, 1 H) 8.02 (dd, J=8.79, 5.43 Hz, 1 H) 9.62 (br. s, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 350 ([M-H]⁻).

[0120] Ejemplo 9: Síntesis de 2-fluoro-4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol

... 0 104
198

[0121] Etapa A: 8-fluoro-5-(3-fluoro-4-metoxi benzil)6-metilo-5,6-dihidro fenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridina (0.268 g, 1.27 mmol) y cloruro de 3-fluoro-4-metoxi benzil (0.239 g, 1.27 mmol) en 5 ML de cloruro de metileno se agregó lentamente durante 1 hora a una solución agitada de (S)-2-metilo- CBS-oxazaborolidina (0.20 mL, solución 1M en tolueno) y complejo de borano- sulfuro de metilo (0.75 mL, solución 1M en cloruro de metileno). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH. La fase orgánica se lavó con solución salina y se seco (Na_2SO_4). El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.209 g, 57% de teoría). MS (ESI) m/z 366 ($[\text{MH}-\text{H}]^+$).

[0122] Etapa B: 2-fluoro-4- ((6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5 (6H)- il]carbonil)fenol - a una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(3-fluoro-4-metoxi benzil)-6-metilo-5,6-dihidro fenantridina (0.191 g, 0.52 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.2 mL de ciclohexano bajo atmósfera de N_2 se agregó tribromuro de boro (0.231 mL, 2.09 mmol). A la reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitarse durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro se descompuso mediante una adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particionó con HCl 2N. La fase orgánica se separó y se concentró en vacuo. El producto residual se purificó mediante cromatografía flash (gel

de sílice 60, cloruro de metileno/acetato etilo, 19:1) para dar la mezcla al producto (0.174 g). El enantiómero quiralmente puro se aísla mediante HPLC quiral (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, etanol/hexano 1:1) para dar el producto como un sólido blanco (0.077 g, 99.8% ee).

$[\alpha]_D^{25} = -676^\circ$ (c = 0.010G/ML, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, J=6.92 Hz, 3 H) 5.74 (q, J=6.83 Hz, 1 H) 6.73 (d, J=7.69 Hz, 1 H) 6.84 (m, 2 H) 7.08 (m, 2 H) 7.22 (dt, J=7.62, 1.15 Hz, 1 H) 7.27 (dt, 1 H) 7.39 (dd, J=9.22, 2.56 Hz, 1 H) 7.93 (dd, J=7.81, 1.41 Hz, 1 H) 8.05 (dd, J=8.71, 5.38 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0123] Ejemplo 10: Síntesis de 2-fluor-4-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol.

[0124] Aislado en la prep quiral anterior (0.027 g, 99.8% ee). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.84 (s, 1 H) 1.19 (d, J=6.92 Hz, 3 H) 5.73 (q, J=6.66 Hz, 1 H) 6.76 (m, 2 H) 6.85 (m, 1 H) 7.07 (m, 2 H) 7.21 (dt, J=7.56, 1.02 Hz, 1 H) 7.27 (dt, J=8.84, 2.82 Hz, 1 H) 7.38 (dd, J=9.22, 2.82 Hz, 1 H) 7.93 (dd, J=7.81, 1.15 Hz, 1 H) 8.05 (dd, J=8.71, 5.64 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0125] Ejemplo 11: Síntesis 2-cloro-5-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol

[0126] Etapa A: 5-(4-cloro-3-metoxibenzil)-8-fluoro-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridina (0.211 g, 1.0 mmol) y cloruro de 4-cloro-3-

metoxibenzil (0.205 g, 1.0 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno se agrego lentamente durante 1 hora a una solución agitada de (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (0.2 mL, solución 1M en tolueno) y complejo de borano-sulfuro de metil (0.7 mL, solución 1M en cloruro de metileno). La mezcla de reacción se agito a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH 1N. La fase orgánica se lavó con solución salina y se seco (Na_2SO_4). El producto crudo se purifico mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.087 g, 29% de teoría); MS (ESI) m/z 382/384 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0127] Etapa B: 2-cloro-5-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol - A una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(4-cloro-3-metoxibenzil)-6-metil-5,6dihidrofenantridina (0.076 g, 0.2 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.5 mL de ciclohexano bajo atmósfera de N_2 se agregó tribromuro de boro (0.088 mL, 0.8 mmol). A la reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitar durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro, se descompuso mediante la adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyo con cloruro de metileno y se particionó con 2N HCl. La fase orgánica se separó y se concentro en vacuo. El producto residual se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno /acetato etilo, 19:1) para dar la mezcla al producto (0.70 g). El enantiómero puro se aisló mediante HPLC quiral (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, acetonitrilo/ etanol, 9:1) para dar el producto como en sólido blanco (0.015 g, 99.8% ee).

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, 3 H) 5.74 (amplio s, 1 H) 6.65 (amplio d, 1 H) 6.77 (amplio s, 1 H) 6.91 (s, 1H) 7.23 (t, 1 H) 7.5 (m, 3 H) 7.39 (dd, 1 H) 7.93 (dd, 1 H) 8.05 (dd, 1 H) 10.42 (s, 1H); MS (ESI) m/z 368/370 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 366/368 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0128] Ejemplo 12: Síntesis de 2-cloro-5-[[[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol.

[0129] Aislado de la prep quiral anterior para dar 0.02 g (99.8%ee) del enantiómero puro. $[\alpha]_D^{25} = +577^\circ$ (c = 0.0082G/ML, MeOH); MS (ESI) m/z 368/370 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 366/368 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0130] Ejemplo 13: Síntesis de 2-bromo-4-[[[(6R)-8-fluoro-6-metilfenanthridin-5(6H)-il]carbonil}fenol.

[0131] Etapa A: 5-(3-bromo-4-methoxibenzil)-8-fluoro-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridina (0.211 g, 1.0 mmol) y 3-bromo-4-metoxibenzil cloruro (0.249 g, 1.0 mmol) en 5 mL de metileno, se agregó lentamente durante una hora a una solución agitada de (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (0.2 mL, solución 1M en tolueno) y complejo de borano-sulfuro de metilo (0.7 mL, solución 1M en cloruro de metileno). La mezcla de reacción se agito a temperatura ambiente, durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó en NaOH 1N. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó (Na_2SO_4). El producto crudo se purifico mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de

metileno) para dar el producto como un sólido blanco (0.180 g, 42% de teoría); MS (ESI) m/z 426/428 ($[M+H]^+$).

[0132] Etapa B: 2-bromo-4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)Fenol - A una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(3-bromo-4-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina (0.175 g, 0.41 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.1 mL de ciclohexano bajo atmósfera N_2 se agregó tribromuro de boro (0.181 mL, 1.63 mmol). La reacción se le permitió calentarse a temperatura ambiente y agitarse durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro se decompuso mediante la adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particionó con HCl 2N. La fase orgánica se separó y se concentró en vacuo. El producto residual se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno/acetato de etilo, 19:1) para dar la mezcla del producto (0.160 g). El enantiómero quiralmente puro se aisló mediante HPLC quiral (Chiralpak AD, 4.6X250 mm, acetonitrilo/etanol, 9:1) para dar el producto como un sólido (0.041 g, 99.98% ee). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.19 (d, 3 H) 5.74 (m, 1 H) 6.74 (d, 1 H) 6.77 (d, 1 H) 7.01 (dd, 1H) 7.21 dt, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.39 (dd, 1H) 7.42 (d, 1H) 7.93 (dd, 1 H) 8.05 (dd, 1 H) 10.90 (s, 1H); MS (ESI) m/z 412/414 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 410/412 ($[M-H]^-$).

[0133] Ejemplo 14: 2-bromo-4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)Fenol.

Es la do del prep quiral anterior para dar 0.049 g (99.8%ee) del compuesto del título. $[\alpha]_{\text{D}^{25}}=+533^{\circ}$ ($c = 0.0104\text{G/ML}$, MeOH); ^1H RMN

(400 MHz⁵ DMSO-d₆) δ ppm 1.19 (d, 3 H) 5.74 (m, 1 H) 6.74 (d, 1 H) 6.77 (d, 1 H) 7.01 (dd, 1H) 7.22 dt, 1 H) 7.25 (m, 3 H) 7.39 (dd, 1H) 7.43 (d, 1H) 7.93 (dd, 1 H) 8.05 (dd, 1 H) 10.89 (s, 1H); MS (ESI) m/z 412/414 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 410/412 ([M-H]⁻)

[0134] Ejemplo 15: Síntesis de 4-bromo-3-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonyl)fenol.

[0135] Etapa A: 5-(2-bromo-5-metoxibenzil)-8-fluoro-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridina (0.211 g, 1.0 mmol) y cloruro de 2-bromo-5-metoxibenzil (0.231 g, 1.0 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno se agregó lentamente durante 1 hora a una solución agitada de (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (0.2 mL, solución 1M en tolueno) y complejo de borano-metil sulfuro (0.7 mL, solución 1M en cloruro de metileno). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH. La fase orgánica se lavó con solución salina y se seco (Na₂SO₄). El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar un producto como un sólido blanco (0.258 g, 60% de teoría); MS (ESI) m/z 426/428 ([M+H]⁺).

[0136] Etapa B: 4-bromo-3-([(6R)8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-yl] carbonil)fenol - A una solución enfriada a -78°C de 8-fluoro-5-(2-bromo-5-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina (0.243 g, 0.57 mmol) en 5 mL de cloruro de metileno que contiene 0.2 mL de ciclohexano bejo atmósfera N₂ se agregó tribromuro de boro (0.252 mL, 2.28 mmol). La reacción se le permitió calentar

de a temperatura ambiente y agitarse durante toda la noche. El exceso de tribromuro de boro se descompuso mediante la adición gota a gota de metanol a la mezcla de reacción enfriada con hielo. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se particionó con HCl 2N. La fase orgánica se separó y concentró en vacuo. El producto residual se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno/acetato de etilo, 19:1) para dar la mezcla del producto (0.210 g). El enantiómero puro se aisló mediante HPLC quiral (Whelk-01 (S3S), etanol/hexano 1:1) para dar el producto como un sólido blando (0.080 g, 99.8% ee). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.19 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 6.06 (d, $J=5.69$ Hz, 1 H) 6.70 (m, 2 H) 6.85 (dd, 1 H) 7.03 (m, 1 H) 7.22 (m, 2 H) 7.44 (m, 2 H) 7.88 (d, $J=7.76$ Hz, 1 H) 7.99 (m, 2 H) 10.03 (s, 1 H)

MS (ESI) m/z 412/414 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 410/412 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0137] Ejemplo 16: Síntesis de 4-bromo-3-([(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol.

[0138] Aislado en el prep quiral anterior para dar 0.055 g (98.6% ee) de compuesto del título.

$[\alpha]_D^{25} = +476^\circ$ ($c=0.0104\text{G/ML}$, MeOH); MS (ESI) m/z 412/414 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 410/412 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0139] Ejemplo 17: Síntesis de 4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}-2-metoxifenol.

[0140] Una solución de 8-fluoro-6-metilfenantridin (0.211 g, 1.0 mmol) y cloruro 3-metoxi-4-hidroxibenzil (0.168 g, 1.0 mmol) en 5

mL de cloruro de metileno se agrego lentamente durante 1 hora a una solución agitada de (S)-2-metil-CBS- oxazaborolidina (0.2 mL, solución 1M en tolueno) y complejo borano-sulfuro de metil (0.7 mL, solución 1M en cloruro de metileno). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se particionó con NaOH 1N. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó (Na_2SO_4). El producto de crudo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice 60, cloruro de metileno) para dar la mezcla del producto (0.053 g). El enantiómero puro se aisló mediante HPLC quiral (AD, acetonitrilo/etanol, 9:1) para dar el producto como un sólido blanco (0.033 g, 99.8% ee). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.20 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 5.76 (q, $J=6.64$ Hz, 1 H) 6.64 (m, 2 H) 6.71 (d, $J=8.28$ Hz, 1 H) 6.89 (d, $J=1.03$ Hz, 1 H) 7.06 (td, $J=7.70$, 1.42 Hz, 1 H) 7.20 (td, $J=7.57$, 1.16 Hz, 1 H) 7.26 (td, $J=8.79$, 2.85 Hz, 1 H) 7.39 (dd, $J=9.31$, 2.85 Hz, 1 H) 7.92 (dd, $J=8.02$, 1.29 Hz, 1 H) 8.05 (dd, $J=8.67$, 5.56 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 364 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 362 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0141] Ejemplo 18: Síntesis de 4-([(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)-2-metoxifenol

[0142] Aislado del prep quiral anterior para dar 0.02 g (98.6 % ee) del compuesto del título.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}=+493^\circ$ ($c=0.008\text{G/ML}$, MeOH); ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.19 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 3.61 (s, 3 H) 5.76 (q, $J=6.64$ Hz, 1 H) 6.64 (m, 2 H) 6.71 (d, $J=8.02$ Hz, 1 H) 6.88 (d, $J=1.03$ Hz, 1 H) 7.06 (td, $J=7.70$, 1.42 Hz, 1 H) 7.20 (td, $J=7.57$, 1.16 Hz, 1 H)

7.26 (td, $J=8.79$, 2.85 Hz, 1 H) 7.39 (dd, $J=9.31$, 2.85 Hz, 1 H)
7.92 (dd, $J=7.89$, 1.42 Hz, 1 H) 8.05 (dd, $J=8.79$, 5.43 Hz, 1 H)
9.63 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 364 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 362 ($[M-H]^-$).

[0143] Ejemplo 19: Síntesis de 4-[[*(6S)*-6-etil-8-fluorofenantridin-5(*6H*)-il]carbonil]fenol.

[0144] Etapa A: 6-Etil-8-metil-fenantridina- Para enfriar (hielo seco/acetona) bromuro de etilmagnesio (20 mL de 1.0 M in THF) se agregó una mezcla de 4,2'-difluoro-bifenil-2-carbonitrilo (4.6 mmol, 1.0 g) en 10 mL de THF, gota a gota (15 min). La agitación continua durante toda la noche, y la mezcla de reacción se diluyó con 10% de cloruro de amonio y acetato de etilo. La porción orgánica se lavó con agua y solución salina y se seco sobre sulfato de magnesio. El solvente se removió y el producto crudo destilló (diclorometano) dando un sólido blanco: pf 74-75°C (0.44 g, 52%); MS m/z 216 ($[M+H]^+$).

[0145] Etapa B: 6-etil-8-fluoro-5-(4-metoxibenzil)-5,6-dihidrofenantridina - A una mezcla de complejo de sulfuro de metil borano (2.5 mL de solución 1M en diclorometano), S-2-Metil-CBS-oxazaborolidina (1 mL de solución 1 M en tolueno) y diclorometano anhidro (25 mL) a una solución de 6-Etil-8-metil-fenantridina (0.906 g, 5 mmol) y cloruro de 4-Metoxibenzil (0.938 g, 5.5 mmol) en diclorometano (10 mL), gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se agregó hidróxido de sodio (10 mL de solución 2 N), la porción orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el solvente

133
197

se removió para suministrar un líquido oscuro. El material crudo se purificó mediante cromatografía flash (diclorometano) para lograr un sólido blanco (0.95 g, 52%): pf 71-72°C; MS m/z 362 ($[M+H]^+$).

[0146] Etapa C: 4-([(6S)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol - A una mezcla de tribromuro de boro puro (1.2 mL) y ciclohexano (2 mL) en diclorometano anhidro (20 mL) enfriado con hielo seco/isopropanol se agregó una mezcla de 6-etil-8-fluoro-5-(4-metoxibenzil)-5,6-dihidrofenantridina (0.90 g, 2.5 mmol) in diclorometano (10 mL), gota a gota (20 min.) La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche, en la medida en que la temperatura se elevó a temperatura ambiente. El exceso de tribromuro de boro se descompuso al agregar una pequeña cantidad de metanol, seguida por HCl 2N (5 mL). La porción orgánica se seco sobre sulfato de magnesio anhidro, el solvente se removió, y el producto crudo se purifico mediante cromatografía (5% de acetato de etil-diclorometano) para lograr un sólido tostato (0.583g), El compuesto se purificó mediante HPLC quiral para dar 0.220 g del compuesto del título, pf 103-104°C; ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.4$ Hz), 1.33-1.43 (1H, m), 1.45-1.54 (1 H, m), 5.57-5.61 (1 H, m), 6.62 (2 H, d, $J=8.8$ Hz), 6.68 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 7.04-7.08 (3 H, m), 7.17-7.21 (1 H, m), 7.25-7.30 (1 H, m), 7.38 (1 H, dd, $J=9.3$ Hz, $J=2.7$ Hz), 7.91 (1H, dd, $J=7.8$ Hz, $J=1.2$ Hz), 8.04 (1H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.92 (1H, br s); MS m/z 348 ($[M+H]^+$).

[0147] Ejemplo 20: Síntesis de 4-([(6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol.

23?
198

[0148] El isómero menor también se aisló de la separación anterior. (0.100 g): pf 105-106; ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.4$ Hz), 1.33-1.43 (1 H, m), 1.45-1.55 (1 H, m), 5.57-5.61 (1 H, m), 6.62 (2 H, d, $J=8.8$ Hz), 6.68 (1 H, d, $J=7.9$ Hz), 7.04-7.09 (3 H, m), 7.17-7.21 (1 H, m), 7.25-7.30 (1 H, m), 7.38 (1 H, dd, $J=9.2$ Hz, $J=2.7$ Hz), 7.91 (1 H, dd, $J=7.9$ Hz, $J=1.3$ Hz), 8.04 (1 H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.92 (1 H, br s); MS m/z 348 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0149] Ejemplo 21: Síntesis de 3-([(6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol.

[0150] A una mezcla de un complejo de sulfuro de metilo (0.6 mL de solución 1 M en diclorometano), se agregó S-2-Metil-CBS-oxazaborolidina (0.2 mL de solución 1 M en tolueno) y diclorometano anhidro (5 mL) a una solución de 6-Etil-8-metil-fenantridina (0.225 g, 1 mmol) y cloruro 3-metoxibenzilo (0.188 g, 1.1 mmol) en diclorometano (5 mL), gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se agregó hidróxido de sodio (10 mL de solución 2 N), la porción orgánica se seco sobre sulfato de magnesio anhidro y el solvente se removió para suministrar un líquido oscuro. El material crudo se purificó mediante cromatografía (diclorometano) para lograr un sólido blanco (.08 g, 22%). El material fue tomado por adelantado sin conseguir análisis. A una mezcla de tribromuro de boro puro (.2 mL) y ciclohexeno (0.2 mL) en diclorometano (10 mL) enfriado con hielo seco/isopropanol se agregó una mezcla del derivado de metoxi anterior 0.080 g, 0.2 mmol) en diclorometano (10 mL), gota

0 185
199

a gota (20 min.) La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche en la medida en que la temperatura se elevó a su temperatura ambiente. El exceso de tribromuro de boro se descompuso al agregar una pequeña cantidad de metanol, seguida por HCl 2N (5 mL). La porción orgánica se seco sobre sulfato anhidro, el solvente se removió y el producto crudo se purificó mediante cromatografía (5% de acetato de etil-diclorometano) para lograr un sólido (0.045g), el cual se purificó mediante HPLC quiral para dar el isómero mayor: 0.030 g: pf 101-102; ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.3$ Hz), 1.31-1.42 (1 H, m), 1.46-1.54 (1 H, m), 5.59 (1 H, br s), 6.56 (1 H, d, $J=7.4$ Hz), 6.61 (1 H, s), 6.76 (2 H, dd, $J=8.1$ Hz, $J=1.7$ Hz), 7.04-7.09 (2 H, m), 7.19-7.23 (1 H, m), 7.26-7.31 (1 H, m), 7.36-7.39 (1 H, m), 7.92 (1 H, dd, $J=7.9$ Hz, $J=1.2$ Hz), 8.06 (1 H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.56 (1 H, s); MS m/z 348 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0151] Ejemplo 22: Síntesis de 4-([(6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonyl)benceno-1,3-diol

[0152] Etapa A: 5-(2,4-dimetoxibenzil)6-etil-8-fluoro-5,6-dihydrofenantridina - A una mezcla de complejo de metil borano (0.6 mL de solución 1 M en diclorometano), S-2-Metil-CBS-oxazaborolidina (0.2 mL de solución 1 M en tolueno) y diclorometano anhidro (5 mL) se agregó a una solución de 6-Etil-8-metil-fenantridina (0.225 g, 1 mmol) y cloruro 2,4-dimetoxibenzil (0.221 g, 1.1 mmoles) en diclorometano (5 mL), gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se agregó hidróxido de sodio (10 mL de solución 2 N), la porción orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y

el solvente se removió para suministrar un líquido oscuro. El material crudo se purificó mediante cromatografía (diclorometano) para formar un sólido blanco (0.18 g, 32%): pf 125-126°C; MS (ESI) m/z 392 ($[M+H]^+$).

[0153] Etapa B: 4-([6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil)benceno-1,3-diol - A una mezcla de tribromuro de boro puro (.2 mL) y ciclohexeno (0.2 mL) en diclorometano anhidro (10 mL) enfriado con hielo seco/isopropanol se agregó una solución de 5-(2,4-dimetoxibenzil)-6-etil-8-fluoro-5,6-dihidrofenantridina (0.080 g, 0.2 mmol) en diclorometano (10 mL), gota a gota (20 min.) La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche, en la medida que en que la temperatura se elevó a su temperatura ambiente. El exceso de tribromuro de boro se descompuso al agregar una pequeña cantidad de metanol, luego se agregó HCl 2N (5 mL). La porción orgánica se seco sobre sulfato de magnesio anhidro, el solvente se removió y el producto crudo se purificó mediante cromatografía (5% acetato de etilo-diclorometano) para lograr un sólido (0.05g), el cual se sometió a separación cromatográfica de los isómeros. El isómero mayor: 0.012 g: pf 98-100; ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 0.84 (3 H, t, $J=7.3$ Hz), 1.34-1.41 (1 H, m), 1.49-1.56 (1 H, m), 5.55 (1 H, br s), 6.10 (1 H, d, $J=1.9$ Hz), 6.14 (1 H, dd, $J=8.4$ Hz, $J=2.2$ Hz), 6.85 (1 H, d, $J=8.3$ Hz), 7.05 (1 H, t, $J=7.4$ Hz), 7.15-7.19 (1 H, m), 7.21-7.26 (1 H, m), 7.31-7.33 (2 H, m), 7.85 (1 H, dd, $J=7.8$ Hz, $J=1.3$ Hz), 7.96 (1 H, dd, $J=8.7$ Hz, $J=5.5$ Hz), 9.53 (1 H, s), 9.61 (1 H, s); MS m/z 364 ($[M+H]^+$).

0 187
201

[0154] Ejemplo 23: Síntesis de 4-[(6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-yl)carbonil]-3-fluorofenol.

[0155] Etapa A: 6-etil-fluoro-5-(2-fluoro-4-metoxibenzil)-5,6-dihidrofenantridina - A una mezcla de complejo de sulfuro de metil borano (0.5 mL de una solución 1M de diclorometano), S-2-Metil-CBS-oxazaborolidina (0.2 mL de solución 1 M en tolueno) y diclorometano anhidro (5 mL) a una solución de 6-Etil-8- metil-fenantridina (0.225 g, 1 mmol) y cloruro 2-fluoro-4-metoxibenzil (0.20 g, 1.1 mmol) en diclorometano (5 mL), gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se agregó hidróxido de sodio (10 mL de solución 2 N), la porción orgánica se seco sobre sulfato de magnesio y el solvente se removió para suministrar un líquido oscuro. El material crudo se purificó mediante cromatografía (diclorometano) para lograr un sólido blanco (0.13 g, 33 %):

MS (ESI) m/z 380 ($[M+H]^+$);

[0156] Etapa B 4-[(6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-yl)carbonil]-3-fluorofenol - A una mezcla de tribromuro de boro puro (0.1 mL) y ciclohexeno (0.2 mL) en diclorometano anhidro (10 mL) enfriado con hielo seco/isopropanol se agregó una solución de 6-etil-8-fluoro-5-(2-fluoro-4-metoxibenzil)-5,6-dihidrofenantridina (0.120 g, 0.3 mmol) en diclorometano (10 mL), gota a gota (20 min.) La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche, en la medida en que la temperatura se elevó hasta temperatura ambiente. El exceso de tribromuro de boro se descompuso al agregar una pequeña cantidad de metanol, y luego se agregó HCl 2N (5 mL). La porción orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, el

solvente se removió y el producto crudo se purificó mediante cromatografía (10% de acetato de etilo-diclorometano) para lograr un sólido (0.045g): pf 109-111°C; ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 0.86 (3 H, t, $J=7.2$ Hz), 1.27-1.35 (1 H, m), 1.48-1.54 (1 H, m), 5.69 (1 H, br s), 6.33 (1 H, br s), 6.60 (1 H, d, $J=6.7$ Hz), 7.06 (1 H, br s), 7.19-7.28 (2 H, m), 7.38 (1 H, d, $J=8.0$ Hz), 7.89 (1 H, d, $J=7.0$ Hz), 8.01 (1 H, dd, $J=8.5$ Hz, $J=5.3$ Hz), 10.32 (1 H, br s); MS m/z 366 ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

[0157] Ejemplo 24: Síntesis de 3-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol.

[0158] Etapa A: Ácido 1-(4'-cloro-2'-fluoro-1.1'-bifenil-2-il)Detanona-2-Acetilfenil borónico (5g, 30.5 mmol) y 4-cloro-2-fluoroyodobenceno (8.6 g, 33.5 mmol) se disolvieron en mezcla de tolueno/etanol (6:1, 175 mL). Una solución acuosa de carbonato de potasio (2M, 60 mL) y tetrakis(trifenilfosfina) paladio (0) (1.06 g, 0.91 mmol) se agregaron a la solución y la mezcla completa se desgasificó utilizando vacío y agitando con una purga de nitrógeno intermitente. La mezcla se calentó (85°C) con agitación durante 14 h. A la mezcla se le permitió enfriarse y luego se agregó agua. La fase orgánica se separó de la fase acuosa, y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron, y se concentraron hasta un aceite crudo. El producto se aisló por vía de cromatografía de columna flash (Biotage® 40 Mi, 5-20%, metil terc-butiléter en hexano) y logró 4.07 g (54%) del producto deseado en un aceite amarillo. MS (EI) m/z 248.0/250.0 (M^+);

159
203

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.45 (s, 3 H) 7.37 (m, 3 H) 7.44 (m, 1 H) 7.57 (td, $J=7.63$, 1.29 Hz, 1 H) 7.65 (td, $J=7.57$, 1.42 Hz, 1 H) 7.90 (ddd, $J=7.63$, 1.42, 0.52 Hz, 1 H)

[0159] Etapa B: 1-(4'-Cloro-2'-fluoro-bifenil-2-yl)-etilamina - A una solución agitada de 1-(4'-Cloro-2'-fluoro-bifenil-2-yl)-etanona (3.2 g, 12.9 mmol) en metanol anhidro (200 mL) se agregó acetato de amonio sólido (19.8 g, 257 mmol). La mezcla de reacción se calentó (60°C, 1h) seguido por la adición de una solución metanólica de cianoborohidruro de sodio (1.62g, 25.8 mmol). Después de 16h, el metanol se removió en vacuo y se agregó hidróxido de amonio acuoso. La fase acuosa se extrajo con dietil éter (3 x 200 mL) hasta que la amina ya no estaba presente en la fase acuosa. La fase orgánica fue entonces lavada con HCl acuoso 2N (3 x 100 mL) y las fases acuosas combinadas. El sólido formado durante el lavado ácido se determinó por ser amina dialquilada y se segregó la fase acuosa. El hidróxido de sodio acuoso fue entonces agregado a la fase acuosa ácida hasta que la solución básica (pH 8-9). La fase acuosa básica se extrae con dietil éter hasta que la amina primaria ya no se detecta más en la fase acuosa. Las fases orgánicas combinadas se secan (Na_2SO_4), se filtran, y se concentran para proporcionar un aceite claro que se usa sin purificación adicional.

MS [(ES+), m/z]: 233 [M-16] $^+$, catión bencílico como un resultado de la pérdida de NH_2 ;

[0160] Etapa C: N-[1-(4'-cloro-2'-fluoro-1.1'-bifenil-2-yl)etil]-3-metoxibenzamida- A una solución de 1-(4'-Cloro-2'-fluoro-bifenil-2-yl)etilamina (1g, 4 mmoles) y trietilamina (614

0 280
204

μL , 4.4 mmoles) en acetonitrilo se agrega cloruro de 3-metoxibenzoilo (683 mg, 4 mmoles). La reacción se mezcla durante la noche (16 h) en un mezclador orbital a temperatura ambiente. El acetonitrilo se removi6 en vacio y el s6lido resultante se disuelve en diclorometano y se aplica directamente a una columna Biotage® (40 Mi) para cromatografía por columna flash (5-30% de terc-butil6ter de metilo en hexano) resultando en el aislamiento de 1.22 g (79%) de un s6lido blanco. pf 176.2-177.9 °C; ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.31 (d, $J=5.69$ Hz, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 4.96 (m, 1 H) 7.07 (dd, $J=8.02$, 1.81 Hz, 1 H) 7.16 (d, $J=7.24$ Hz, 1 H) 7.36 (m, 7 H) 7.60 (m, 2 H) 8.80 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 384/386 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); Anal. calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClFNO}_2$: C:68.84 H:4.99 N:3.65 Encontrado: C:68.88 H:5.25 N:3.64.

[0161] Etapa D: 3-cloro-5-(3-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina- Se disuelve N-[1-(4'-Cloro-2'-fluorobifenil-2-il)-etil]-3-metoxi-benzamida (1.04g, 2.7 mmoles) en THF anhidro (10 mL) y el frasco se tapa y se purga con una atm6sfera inerte. Se agrega bis (trimetilsilil)amida de litio (4.1 mL, 1M den THF) a la soluci6n y la mezcla se calienta (70°C). El progreso de la reacci6n se monitorea por LCMS y el calentamiento se descontinúa luego del gasto del material de partida. El THF se remueve y el residuo resultante se purifica por cromatografía de columna flash (Biotage® 40 Mi, 30-50% de terc-butil6ter de metilo en hexano) proporcionando 537 mg (54%) del producto deseado. MS $[(\text{ES}^+), m/z]$: 364/366 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1 patr6n de Cl.

[0162] Etapa E: 3-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol- A una soluci6n de (3-cloro-6-metil-6H-

201
805

fenantridin-5-il)-(3-metoxi-fenil)-metanona (484 mg, 1.33 mmoles) en diclorometano se agrega ciclohexeno (900 μ L, 8.9 mmoles). El frasco se tapa y se purga con una atmósfera inerte seguido por la adición de una solución al 1 M de tribromuro de boro en diclorometano (5.3 mL). La solución se mezcla a temperatura ambiente usando un agitador orbital. Después de 3 horas la reacción se enfría en un baño con hielo (0°C) y calmada luego de la adición lenta de metanol. La solución clara se concentra y el residuo resultante se purifica inmediatamente usando una columna Biotage® 40 Mi de gel de sílice preempacado (90g), eluyendo con un gradiente de 5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las fracciones que contienen el producto deseado se combinan y se concentran para proporcionar 397 mg (85%) de un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.17 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.60 (d, $J=6.21$ Hz, 1 H) 6.66 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 6.69 (s, 1 H) 6.80 (ddd, $J=8.21, 2.52, 0.91$ Hz, 1 H) 6.88 (s, 1 H) 7.13 (t, $J=7.89$ Hz, 1 H) 7.25 (dd, $J=8.41, 2.20$ Hz, 1 H) 7.38 (m, 3 H) 7.94 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 9.63 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 348/350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0163] Ejemplo 25: Síntesis de 3-([(6R)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol

[0164] Los enantiómeros de 3-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil]fenol (367 mg, 1.05 mmoles) se separan mediante cromatografía quiral automatizada, preparativa, de fase normal en una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 100% de etanol a una velocidad de flujo de 10 mL/min. Después de la combinación de las fracciones y la evaporación del solvente en

0 212
206

vacío, un pico con un tiempo de retención de 3.801 minutos se aísla como un sólido blanco (144 mg, 79% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 183.5 mg). $[\alpha]_D^{25} = -398^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.65 (d, $J=6.47$ Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 6.73 (s, 1 H) 6.84 (ddd, $J=8.15$, 2.46, 0.78 Hz, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 7.17 (t, $J=7.89$ Hz, 1 H) 7.28 (dd, $J=8.41$, 2.20 Hz, 1 H) 7.39 (m, 2 H) 7.45 (m, 1 H) 7.98 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 9.68 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 ($[\text{MH}-\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 348/350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$, 349.0870 (M), 350.09424 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); encontrado (ESI+), 350.09353.

[0165] **Ejemplo 26:** Síntesis de 3-[[[(6S)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil]fenol

[0166] Los enantiómeros de 3-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol (367 mg, 1.05 mmoles) se separan mediante cromatografía quiral automatizada, preparativa, de fase normal, en una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 100% de etanol a una velocidad de flujo de 10 mL/min. Después de la combinación de las fracciones y la evaporación del solvente en vacío, un pico (99.9%) con un tiempo de retención de 9.771 minutos se aísla como un sólido blanco (135 mg, 74% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 183.5 mg). $[\alpha]_D^{25} = +440^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.64 (d, $J=6.21$ Hz, 1 H) 6.69 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 6.72 (s, 1 H) 6.83 (dd, $J=2.59$, 1.03 Hz, 1 H) 6.85 (m, 1 H) 6.92 (s, 1 H) 7.16 (t, $J=7.89$

0 283
207

Hz, 1 H) 7.28 (dd, $J=8.41$, 2.20 Hz, 1 H) 7.39 (m, 2 H) 7.45 (m, 1 H) 7.98 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H); MS (ESI) m/z 350/352 ($[M+H]^+$);

MS (ESI) m/z 348/350 ($[M-H]^-$); HRMS: calculado para $C_{21}H_{16}ClNO_2$, 349.0870 (M), 350.09424 ($[M+H]^+$); encontrado (ESI+), 350.09345.

[0167] **Ejemplo 27:** Síntesis de 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol

[0168] **Etapas A:** N-[1-(4'-cloro-2'-fluoro-1.1'-bifenil-2-il)etil]-4-metoxibenzamida - El compuesto titulado se prepara a partir de 1-(4'-cloro-2'-fluoro-bifenil-2-il)-etilamina (1 g, 4 mmoles), trietilamina (614 μ L, 4.4 mmoles), y cloruro de 4-metoxibenzilo (683 mg, 4 mmoles) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el Ejemplo 24, etapa c. El residuo crudo se purifica inmediatamente sobre una columna Biotage® (40Mi) para cromatografía por columna flash (5-30% de terc-butiléter metilo en hexano) resultando en el aislamiento de 1.22 g (79%) de un sólido blanco. Pf 165- 165.9°C; ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.31 (s, 3 H) 3.80 (s, 3 H) 4.94 (s, 1 H) 6.97 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.15 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 7.30 (s, 1 H) 7.43 (m, 2 H) 7.60 (m, 3 H) 7.82 (d, $J=7.50$ Hz, 2 H) 8.66 (s, 1 H). MS (ESI) m/z 384/386 ($[MH-H]^+$); Anal, calculado para $C_{22}H_{19}ClFNO_2$: C:68.84 H:4.99 N:3.65 Encontrado: C:68.81 H:5.07 N:3.65.

[0169] **Etapas B:** 3-cloro-5-(4-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - El compuesto titulado se prepara a partir de N-[1-(4'-cloro-2'-fluoro-bifenil-2-il)etil]-4-metoxi-benzamida (1.04 g, 2.7 mmoles), THF anhidroso (ao mL), y

0 244
206

bis(trimetilsilil)amida de litio (4.1 mL, 1M en THF) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el Ejemplo 24, etapa d. El THF se remueve y el residuo resultante se purifica por cromatografía de columna flash (Biotage® 40 Mi, 30-50% de terc-butiléter de metilo en hexano) proporcionando 738 mg (75%) del producto deseado. MS [(ES+), m/z]: 364/366 [M+H]⁺, 1 patrón de Cl;

[0170] **Etap** **C:** 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol - El compuesto titulado se prepara a partir de (3-cloro-6-metil-6H-fenantridin-5-il)-(4-metoxi-fenil)-metanona (622 mg, 1.71 mmoles), ciclohexeno (900 µL, 8.9 mmoles), y una solución al 1 M de tribromuro de boro en diclorometano (6.8 mL) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el Ejemplo 24, etapa e. El residuo crudo se purifica inmediatamente usando una columna Biotage® 40 Mi de gel de sílice preempacado (90g), eluyendo con un gradiente de 5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las fracciones que contienen el producto deseado se combinan y se concentran para proporcionar 450 mg (75%) de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 5.67 (q, J=6.73 Hz, 1 H) 6.71 (d, J=8.79 Hz, 2 H) 6.79 (d, J=2.07 Hz, 1 H) 7.17 (d, J=8.54 Hz, 2 H) 7.26 (dd, J=8.54, 2.07 Hz, 1 H) 7.41 (m, 3 H) 7.98 (m, 2 H) 10.03 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 348/350 ([M-H]⁻).

[0171] **Ejemplo 28:** Síntesis de 4-([(6R)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol

208
209

[0172] Los enantiómeros de 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol (400 mg, 1.14 mmoles) se separan por cromatografía quiral automatizada, con cambio de solvente en la columna, preparativo, de fase normal, sobre una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 20% de etanol en hexano a una velocidad de flujo de 12 mL/min con. Después de la combinación de las fracciones y la evaporación del solvente en vacío, un pico (99.9%) con un tiempo de retención de 3.571 minutos se aisló como un sólido blanco (194 mg, 97% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 200 mg). pf 273.5-276 °C; $[\alpha]_D^{25} = -321^\circ$ (c = 0.010 g/mL, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.21 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 5.67 (q, J=6.90 Hz, 1 H) 6.71 (d, J=8.79 Hz, 2 H) 6.79 (d, J=2.07 Hz, 1 H) 7.17 (m, 2 H) 7.26 (dd, J=8.54, 2.07 Hz, 1 H) 7.41 (m, 3 H) 7.98 (dd, 2 H) 10.04 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 348/350 ([M-H]⁻).

[0173] **Ejemplo 29:** Síntesis de 4-[(6S)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol

Los enantiómeros de 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol (400 mg, 1.14 mmoles) se separan por cromatografía quiral automatizada, con cambio de solvente en la columna, preparativa, de fase normal, sobre una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 20% de etanol en hexano a una velocidad de flujo de 12 mL/min con. Después de la combinación de las fracciones y la evaporación del solvente en vacío, un pico (99.8%) con un tiempo de retención de 8.078 minutos se aisló como un sólido blanco (200 mg, 100% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 200 mg). pf

273.7-276 °C; $[\alpha]_D^{25} = +393^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.67 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.71 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 6.79 (d, $J=2.07$ Hz, 1 H) 7.17 (d, $J=8.54$ Hz, 2 H) 7.26 (dd, $J=8.41, 2.20$ Hz, 1 H) 7.41 (m, 3 H) 7.98 (m, 2 H) 10.04 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350/352 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 348/350 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0174] **Ejemplo 30:** Síntesis de 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]benceno-1,3-diol

[0175] **Etapas A:** N-[1-(4'-cloro-2'-fluoro-1.1'-bifenil-2-il)etil]-2,4-dimetoxibenzamida - El compuesto titulado se prepara a partir de 1-(4'-cloro-2'-fluoro-bifenil-2-il)-etilamina (500 mg, 2 mmoles), trietilamina (293 μL , 2.1 mmoles), y cloruro de 2,4-dimetoxibenzilo (342 mg, 2 mmoles) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describe en el Ejemplo 24, etapa c. El acetonitrilo se remueve en vacío y el sólido resultante se disuelve en diclorometano y se aplica directamente a una columna Biotage® (40Mi) para cromatografía por columna flash (5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano) resultando en el aislamiento de 820 mg (99%) de un sólido blanco. MS (ESI) m/z 414/416 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0176] **Etapas B:** 3-cloro-5-(2,4-dimetoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - El compuesto titulado se prepara a partir N-[1-(4'-cloro-2'-fluoro-bifenil-2-il)-etil]-4-metoxi-benzamida (800 mg, 1.9 mmoles), THF anhidroso (10 mL), y bis(trimetilsilil)amida de litio (3.8 mL, 1M en THF) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el

Ejemplo 24, etapa d. El THF se remueve y el residuo resultante se purifica por cromatografía de columna flash (Biotage 40 Mi, 30-50% de terc-butiléter de metilo en hexano) proporcionando 564 mg (75%) del producto deseado. MS [(ES+), m/z]: 394/396 [M+H]⁺, patrón de 1 Cl.

[0177] **Etapas C:** 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]benceno-1,3-diol - El compuesto titulado se prepara a partir de (3-cloro-6-metil-6H-fenantridin-5-il)-(4-metoxi-fenil)-metanona (564 mg, 1.43 mmoles), ciclohexeno (1.45 mL, 14.5 mmoles), y una solución al 1 M de tribromuro de boro en diclorometano (8.59 mL) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el Ejemplo 1, etapa e. El residuo resultante se purifica inmediatamente usando una columna Biotage® 40 Mi de gel de sílice preempacado (90g), eluyendo con un gradiente de 5-50% de terc-butiléter de metilo en hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las fracciones que contienen el producto deseado se combinan y se concentran para proporcionar 516 mg (98%) de un aceite. MS [(ES+), m/z]: 366/368 [M+H]⁺, patrón de 1 Cl; MS [(ESI-), m/z]: 364/366 [M-H]⁻, patrón de 1 Cl.

[0178] **Ejemplo 31:** Síntesis de 4-[(6R)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol

[0179] Los enantiómeros de 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]benceno-1,3-diol (410 mg, 1.12 mmoles) se separaron por cromatografía quiral automatizada, preparativa, de fase normal, sobre una columna Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) eluyendo con 15% de alcohol de isopropilo en hexano a una

velocidad de flujo de 20 mL/min. Después de combinar las fracciones y de la evaporación del solvente en vacío, un pico (99.9%) con un tiempo de retención de 7.479 minutos se aísla como un sólido blanco (114 mg, 28% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 205 mg). $[\alpha]_D^{25} = -367.6^\circ$ (c = 0.0101 g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.16 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.64 (d, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.16 (d, $J=1.81$ Hz, 1 H) 6.23 (dd, $J=8.41$, 2.20 Hz, 1 H) 6.99 (d, $J=8.02$ Hz, 2 H) 7.23 (dd, $J=8.54$, 2.07 Hz, 1 H) 7.35 (m, 2 H) 7.40 (m, 1 H) 7.92 (m, 2 H) 9.60 (s, 1 H) 9.69 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 366/368 ($[\text{M}+\text{H}]^+$);

MS (ESI) m/z 364/366 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClNO}_3$, 365.0819 (M), 366.08915 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); encontrado (ESI+), 366.08918.

[0180] **Ejemplo 32:** Síntesis de 4-([(6S)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)benceno-1,3-diol

[0181] Los enantiómeros de 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)benceno-1,3-diol (410 mg, 1.12 mmoles) se separan por cromatografía quiral automatizada, preparativa, de fase normal, sobre una columna Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) eluyendo con 15% de alcohol de isopropilo en hexano a una velocidad de flujo de 20 mL/min. Después de combinar las fracciones y de evaporar el solvente en vacío, un pico (99.6%) con un tiempo de retención de 9.360 minutos se aísla como un sólido blanco (115 mg, 28% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 205 mg). $[\alpha]_D^{25} = +359.5^\circ$ (c = 0.010 g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.16 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.64 (d, $J=6.47$ Hz, 1 H) 6.16 (d, $J=4.55$

Hz, 1 H) 6.23 (dd, $J=8.28$, 2.33 Hz, 1 H) 6.99 (d, $J=8.28$ Hz, 2 H) 7.23 (dd, $J=8.54$, 2.07 Hz, 1 H) 7.35 (m, 2 H) 7.40 (m, 2 H) 7.92 (dd, 2 H) 9.60 (s, 1 H) 9.69 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 366/368 ($[M+H]^+$);

MS (ESI) m/z 364/366 ($[M-H]^-$); HRMS: calculado para $C_{21}H_{16}ClNO_3$, 365.0819 (M), 366.08915 ($[M+H]^+$); encontrado (ESI+), 366.0892.

[0182] **Ejemplo 33:** Síntesis de 3-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol

[0183] **Etapas A:** 1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etanona - ácido 2,4-Difluorofenil borónico (9.47 g, 60 mmoles), bromuro de tetrabutilamonio (16.1 g, 50 mmoles), y carbonato de potasio (20.7 g, 150 mmoles) se agregan a un frasco seguido por agua (50 mL). Los contenidos se mezclan hasta que la mayor parte de los sólidos disolubles estén en solución. Para la pasta restante se agrega 2'-bromoacetofenona (9.95 g, 50 mmoles) y acetato de paladio (1.12 g, 5 mmol). El frasco se equipa con un condensador y los contenidos se calientan a (70°C) con agitación mientras el sistema se sumerge con una atmósfera de nitrógeno. Después de 12 h, el análisis TLC indica la formación de un producto único en el gasto de 2'-bromoacetofenona. El calentamiento se discontinúa y se le permite a la reacción enfriarse. Se agrega acetato de etilo (500 mL) y la fase orgánica se extrae con agua (3 x 100 mL). La fase de agua combinada se extrae una vez con acetato de etilo adicional y las fases orgánicas se combinan, se secan (Na_2SO_4), se filtran y se concentran para suministrar un aceite crudo. El producto se aísla mediante cromatografía de columna flash (Biotage 40 Mi, 5-20%, de terc-butil éter de metilo en hexano) y

proporciona 5.7 g (49%) del producto deseado como un aceite amarillo.

MS (EI) m/z 233 (M^{+}); ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.42 (s, 3 H) 7.16 (m, 1 H) 7.27 (ddd, $J=I$ 0.57, 9.29, 2.43 Hz, 1 H) 7.39 (m, 2 H) 7.56 (td, $J=7.56$, 1.54 Hz, 1 H) 7.64 (td, $J=7.49$, 1.41 Hz, 1 H) 7.86 (dd, $J=7.43$, 1.28 Hz, 1 H).

[0184] Etapa B: 1-(-2',4'-difluoro-bifenil-2-il)-etilamina -

El compuesto titulado se prepara a partir de 1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etanona (3.67 g, 15.8 mmoles), metanol anhidro (200 mL), acetato de amonio (12.2 g, 158 mmoles), y cianoborohidruro de sodio (1.99 g, 31.6 mmoles) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describe en el Ejemplo 24, etapa b resultando en el aislamiento de un aceite claro que se usó sin purificación adicional. MS [(ES+), m/z]: 217 [$M-16$] $^{+}$, catión bencílico como un resultado de la pérdida de NH_2 .

[0185] Etapa C: N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il) etil]-

3-metoxibenzamida - cloruro de 3-metoxibenzil (731 mg, 4.28 mmoles) se agrega a una solución de 1-(-2',4'-difluoro-bifenil-2-il)-etilamina (1.0 g, 4.28 mmoles) y trietilamina (717 μ L, 5.1 mmoles) en diclorometano (10 mL). La reacción se mezcla durante la noche (16 h) en un mezclador orbital a temperatura ambiente. El volumen de diclorometano se reduce en vacío en 50% y los contenidos de la reacción se aplican directamente a una columna Biotage® (40Mi) para la cromatografía de columna flash (5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano) resultando en el aislamiento de 1.52 g (97%) de un sólido blanco. mp 163.9-165 °C; ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.30 (br d, $J=6.21$ Hz, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 4.96

(br m, 1 H) 7.07 (dd, $J=8.02$, 1.81 Hz, 1 H) 7.15 (d, $J=7.50$ Hz, 2 H) 7.32 (m, 4 H) 7.44 (m, 2 H) 7.63 (s, 2 H) 8.79 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 368 ($[M+H]^+$); Anal, calculado para $C_{22}H_{19}F_2NO_2$: C:71.92 H:5.21 N:3.81 Encontrado: C:71.54 H:5.27 N:3.73

[0186] Etapa D: 3-fluoro-5-(3-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etil]-3-metoxibenzamida (1.29 g, 3.5 mmoles) se disuelve en THF anhidro (10 mL) y el frasco se tapa y se purga con una atmósfera inerte. Se agrega bis(trimetilsilil)amida de litio (4.0 mL, 1 M en THF) a la solución y la mezcla se calienta (70°C). El progreso de la reacción se monitorea por LCMS y el calentamiento se descontinúa luego del gasto del material de partida. El THF se remueve y se agrega HCl acuoso al 2N. El producto se extrae con acetato de etilo (3x) y las fases orgánicas combinadas se secan (Na_2SO_4), se filtran, y se concentran para suministrar un aceite crudo. El residuo se purifica por cromatografía de columna flash (Biotage® 40 Mi, 30-50% de terc-butiléster de metilo en hexano) proporcionando 1.0 g (82%) del producto deseado. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.22 (d, $J=6.76$ Hz, 3 H) 3.71 (s, 3 H) 5.67 (s, 1 H) 6.77 (d, $J=7.28$ Hz, 2 H) 6.93 (s, 1 H) 7.03 (ddd, $J=8.32$, 2.73, 0.91 Hz, 1 H) 7.10 (td, $J=8.71$, 2.60 Hz, 1 H) 7.26 (t, $J=7.93$ Hz, 1 H) 7.40 (m, 3 H) 7.97 (d, $J=7.54$ Hz, 1 H) 8.01 (dd, $J=8.84$, 6.24 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 348 ($[M+H]^+$);

HRMS: calculado para $C_{22}H_{18}FNO_2$, 347.1322 (M), 348.13944 ($[M+H]^+$); encontrado (ESI-FT), 348.13903; Anal. calculado para $C_{22}H_{18}FNO_2$: C, 76.07; H, 5.22; N, 4.03. Encontrado: C, 76.02; H, 5.32; N, 3.97.

[0187] **Etapas** **E:** 3-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol - A una solución de 3-fluoro-5-(3-metoxibezoilo)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina (878 mg, 2.5 mmoles) en diclorometano se agrega ciclohexeno (1.0 mL, 10.1 mmoles). El frasco se tapa y se purga con una atmósfera inerte seguido por la adición de una solución al 1 M de tribromuro de boro en diclorometano (10 mL). La solución se mezcla a temperatura ambiente usando un agitador orbital. Después de 3 horas la reacción se enfría en un baño de hielo (0°C) y calmada luego de la adición lenta de metanol. La solución clara se concentra y el residuo y el residuo resultante inmediatamente se purifica usando Biotage® 40 Mi de gel de sílice preempacado (90g), eluyendo con un gradiente de 5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las fracciones que contienen el producto deseado se combinan y se concentran para proporcionar 731 mg (85%) de un sólido blanco 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1.21 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 5.66 (q, 1 H) 6.71 (m, 3 H) 6.84 (ddd, J=8.21, 2.52, 0.91 Hz, 1 H) 7.09 (td, J=8.54, 2.59 Hz, 1 H) 7.16 (t, J=7.76 Hz, 1 H) 7.37 (m, 2 H) 7.44 (td, J=7.37, 1.81 Hz, 1 H) 7.97 (d, J=7.50 Hz, 1 H) 8.00 (dd, J=8.79, 6.21 Hz, 1 H) 9.66 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 332 ([M-H]⁻).

[0188] **Ejemplo 34:** Síntesis de 3-[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol

[0189] Los enantiómeros de 3-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol (660 mg, 1.98 mmoles) se separan por

0 23
2A

cromatografía quiral automatizada, preparativa, de fase normal, sobre una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 100% de acetonitrilo a una velocidad de flujo de 20 mL/min con. Las fracciones que contienen el primer pico se combinan y se concentran en vacío, para suministrar un pico (99.9%) con un tiempo de retención de 2.708 minutos que se aísla como un sólido blanco (270 mg, 82% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 330 mg). $[\alpha]_D^{25} = -545^\circ$ (c = 0.0105 g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.21 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 5.66 (q, J=6.38 Hz, 1 H) 6.69 (d, J=7.24 Hz, 2 H) 6.72 (s, 1 H) 6.83 (ddd, J=8.15, 2.46, 0.78 Hz, 1 H) 7.09 (td, J=8.67, 2.59 Hz, 1 H) 7.16 (t, J=7.89 Hz, 1 H) 7.37 (m, 2 H) 7.44 (td, 1 H) 7.96 (d, J=7.76 Hz, 1 H) 8.00 (dd, J=8.79, 6.47 Hz, 1 H) 9.66 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FNO}_2$, 333.1165 (M), 334.12379 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); encontrado (ESI+), 334.12345.

[0190] **Ejemplo 35:** Síntesis de 3-[[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol

[0191] Los enantiómeros de 3-[[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol (660 mg, 1.98 mmoles) se separan por cromatografía quiral automatizada, preparativa, de fase normal, sobre una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 100% de acetonitrilo a una velocidad de flujo de 20 mL/min con. Las fracciones que contienen el segundo pico se combinan y se concentran en vacío, proporcionando un sólido blanco (270 mg, 82% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 330 mg de un pico (99.9%) con un

0 214
218

tiempo de retención de 3.894 minutos; $[\alpha]_D^{25} = +490^\circ$ ($c = 0.0102$ g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.66 (q, 1 H) 6.69 (d, $J=7.50$ Hz, 2 H) 6.72 (s, 1 H) 6.83 (ddd, $J=8.15, 2.46, 1.03$ Hz, 1 H) 7.09 (m, 1 H) 7.16 (t, $J=7.89$ Hz, 1 H) 7.37 (m, 2 H) 7.44 (m, $J=7.37, 7.37, 1.81$ Hz, 1 H) 7.96 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 8.00 (dd, $J=8.79, 6.21$ Hz, 1 H) 9.66 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$); HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{FNO}_2$, 333.1165 (M), 334.12379 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); encontrado (ESI+), 334.12344.

[0192] **Ejemplo 36:** Síntesis de 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol

[0193] **Etapas A:** N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etil]-4-metoxibenzamida - El compuesto titulado se prepara a partir de cloruro de 4-metoxibenzilo (731 mg, 4.28 mmoles), 1-(2',4'-difluoro-bifenil-2-il)-etilamina (1 g, 4.28 mmoles), y trietilamina (717 μL , 5.1 mmoles) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el Ejemplo 33, etapa c. El producto se aísla por una columna Biotage® (40Mi) para la cromatografía por columna flash (5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano) resultando en el aislamiento de un sólido blanco, 1.53 g (97%).

pf 134.5-135 $^\circ\text{C}$; ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.29 (d, $J=5.43$ Hz, 3 H) 3.80 (s, 3 H) 4.96 (m, $J=5.95$ Hz, 1 H) 6.97 (d, $J=9.05$ Hz, 2 H) 7.18 (m, 2 H) 7.36 (m, 3 H) 7.64 (d, $J=4.14$ Hz, 2 H) 7.83 (d, $J=7.50$ Hz, 2 H) 8.66 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 368 ($[\text{M}+\text{H}]^+$);

Anal, calculado para $C_{22}H_{19}F_2NO_2$: C:71.92 H:5.21 N:3.81 Encontrado:
C:72.11 H:5.23 N:3.77

[0194] **Etapas B:** 3-fluoro-5-(4-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina- El compuesto titulado fue preparado a partir de N -[1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etilo]-4-metoxibenzamida (1.29 g, 3.5 mmol), THF anhidrosis (10 mL), y bis(trimetilsilil) amida de litio (4.0 mL, 1M en THF) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera descrita en el ejemplo 33, etapa d. el residuo fue purificado por cromatografía de columna flash (Biotage® 40 Mi, 30-50% de terc-butiléter de metilo en hexano) proporcionando 1,1 g(90%) del producto deseado ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.21 (d, J=6.76 Hz, 3 H) 3.77 (s, 3 H) 5.68 (q, J=6.67 Hz, 1 H) 6.60 (dd, J=10.39, 2.60 Hz, 1 H) 6.90 (d, J=8.84 Hz, 2 H) 7.07 (td, J=8.64, 2.73 Hz, 1 H) 7.27 (d, J=8.58 Hz, 2 H) 7.40 (m, 3 H) 7.97 (m, 1 H) 8.00 (dd, J=8.84, 6.24 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 348 ($[M+H]^+$); HRMS: calculado para $C_{22}H_{19}F_2NO_2$, 347.1322 (M), 348.13944 ($[MH-H]^+$); encontrado (ESI_FT), 348.13914.

[0195] **Etapas C:** 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol- El compuesto titulado fue preparado de 3-fluoro-5-(4-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina (977 mg, 2.8 mmol), ciclohexeno (1.2mL, 11.3 m mol), y una solución al 1M de tribromuro de boro en diclorometano (11.3 mL) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera que se describió en el ejemplo 33, etapa e. el residuo crudo fue inmediatamente purificado usando una columna Biotage® 40 Mi de gel de sílice preempacado (90g), eluyendo con un gradiente de 5 a 30% de terc-

butiléter de metilo en hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las fracciones que contenían el producto deseado fueron combinadas y concentradas para proporcionar 773 mg (90%) del sólido blanco.

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.67 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.56 (dd, $J=10.60$, 2.59 Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.06 (td, $J=8.54$, 2.59 Hz, 1 H) 7.16 (d, $J=8.28$ Hz, 2 H) 7.39 (m, 3 H) 7.96 (d, $J=7.76$ Hz, 1 H) 7.99 (dd, $J=8.92$, 6.34 Hz, 1 H) 10.03 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 334 ($[\text{MH}-\text{H}]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

[0196] **Ejemplo 37:** Síntesis de 4-[[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil]fenol

[0197] Los enantiómeros de 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol (720 mg, 2.16 m mol) fueron separados mediante cromatografía quiral automatizada, con cambio de disolvente en la columna, preparativo, de fase normal sobre una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 35% de hexano en etanol a una velocidad de flujo de 15 mL/min. Las fracciones que contienen el primer pico fueron combinadas y concentradas en vacío, para suministrar un pico (99.9%) con un tiempo de retención de 3.620 minutos fue aislado como un sólido blanco (318 mg, 88% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 360 mg).

pf 235.7-236.8 °C; $[\alpha]_D^{25} = -648^\circ$ ($c = 0.010$ g/mL, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1.21 (d, $J=6.98$ Hz, 3 H) 5.68 (q, $J=6.73$

0 227
TU

Hz, 1 H) 6.56 (dd, $J=10.48$, 2.46 Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.06 (td, $J=8.60$, 2.72 Hz, 1 H) 7.16 (m, 2 H) 7.35 (m, 1 H) 7.42 (m, 2 H) 7.98 (td, $J=8.73$, 7.11 Hz, 2 H) 10.04 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 334 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[M-H]^-$).

[0198] **Ejemplo 38:** Síntesis de 4-[(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol

[0199] Los enantiómeros de 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol (720 mg, 2.16 mmol) fueron separados mediante cromatografía quiral automatizada, con cambio de disolvente en columnas, preparativo, de fase normal sobre una columna Chiralpak AD (20 mm x 250 mm) eluyendo con 35% de hexano en etanol a una velocidad de flujo de 15 mL/min con. Las fracciones que contenían el segundo pico fueron combinadas y concentradas en vacío, para suministrar un pico (99.8%) con un tiempo de retención de 8.095 minutos que fue aislado como un sólido blanco (345 mg, 96% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 360 mg). .p.f. 236.6-237.8 °C; $[\alpha]_D^{25} = +581^\circ$ ($c = 0.0107$ g/mL, $CHCl_3$); ^1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1.21 (d, $J=6.73$ Hz, 3 H) 5.68 (q, $J=6.73$ Hz, 1 H) 6.56 (dd, $J=10.60$, 2.59 Hz, 1 H) 6.70 (d, $J=8.79$ Hz, 2 H) 7.06 (td, $J=8.54$, 2.59 Hz, 1 H) 7.16 (m, 2 H) 7.35 (m, 1 H) 7.42 (m, 2 H) 7.98 (td, $J=8.79$, 6.98 Hz, 2 H) 10.04 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 334 ($[M+H]^+$); MS (ESI) m/z 332 ($[M-H]^-$).

[0200] **Ejemplo 39:** Síntesis de 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol

0 218
v22

[0201] **Etapla A:** N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etil]-2,4-dimetoxibenzamida - el compuesto titulado fue preparado a partir de cloruro de 2,4-dimetoxibenzilo (860 mg, 4.28 mmol), 1-(-2',4'-difluoro-bifenil-2-il)-etilamina (1 g, 4.28 mmol), y trietilamina (717 µL, 5.1 mmol) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el ejemplo 33, etapa c resultando en el aislamiento de 1.47 g (86%) de un sólido blanco. .p.f. 134.8-135.2 °C; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.29 (d, J=5.95 Hz, 3 H) 3.81 (s, 3 H) 3.92 (s, 3 H) 4.93 (d, J=6.73 Hz, 1 H) 6.59 (dd, J=8.79, 2.33 Hz, 1 H) 6.64 (d, J=2.33 Hz, 1 H) 7.18 (m, 2 H) 7.49 (m, 6 H) 8.29 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 398 ([M+H]⁺); Anal, calculado para C₂₃H₂₁F₂NO₃: C:69.51 H:5.33 N:3.52 Encontrado: C:69.27 H:5.30 N:3.39

[0202] **Etapla B:** 3-fluoro-5-(2,4-dimetoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina- El compuesto titulado fue preparado a partir de N-[1-(2',4'-difluoro-1,1'-bifenil-2-il)etil]-2,4-dimetoxibenzamida (1.29 g, 3.2 mmol), THF anhidroso (10 mL), y bis (trimetilsilil) amida de litio (4.0 mL, 1M en THF) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera como se describió en el ejemplo 33, etapa d. el residuo resultante fue purificado por cromatografía de columna flash (Biotage® 40 Mi, 30-50% de terc-butiléter de metilo en hexano) proporcionando 1,2 g (99%) del producto deseado. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.76 Hz, 3 H) 3.79 (br m, 6 H) 3.92 (s, 1 H) 6.28 (s, 1 H) 6.62 (m, 1 H) 7.06 (s, 1 H) 7.34 (br m, 1 H) 7.42 (br m, 3 H) 7.52 (br d, J=7.54 Hz, 1 H) 7.96 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 378 ([M+H]⁺); HRMS: calculado para C₂₃H₂₀FNO₃, 377.1427 (M), 378.15000 ([M+H]⁺); encontrado (ESI_FT), 378.14878

217
23

[0203] **Etapas C:** 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]benceno-1,3-diol- El compuesto titulado era 3-fluoro-5-(2,4-dimetoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina (1.25 mg, 3.3 mmol), ciclohexeno (1.74mL, 16.5 m mol), y una solución al 1M de tribromuro de boro en diclorometano (16.5 mL) de acuerdo con el procedimiento y de la misma manera que se describió en el ejemplo 33, etapa e. el residuo crudo fue purificado inmediatamente usando una columna Biotage® 40 Mi de gel de sílice preempacado (90g), eludiendo con un gradiente de 5-30% de terc-butiléter de metilo en hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min. Las fracciones que contenían el producto deseado fueron combinadas y concentradas para proporcionar 1.0 g (85%) de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.98 Hz, 3 H) 5.65 (d, J=6.73 Hz, 1 H) 6.16 (d, J=1.81 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 6.75 (d, J=9.83 Hz, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.04 (td, J=8.60, 2.72 Hz, 1 H) 7.36 (m, 3 H) 7.90 (d, J=7.50 Hz, 1 H) 7.94 (dd, J=8.92, 6.34 Hz, 1 H) 9.62 (s, 1 H) 9.70 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 350 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 348 ([M-H]⁻); HRMS: calculado para C₂₁H₁₆FNO₃, 349.1114 (M), 348.10414 ([M+H]⁺); encontrado (ESI⁻), 348.10418.

[0204] **Ejemplo 40:** Síntesis de 4-[[6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol

[0205] Los enantiómeros de 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]benceno-1,3-diol (800 mg, 2.29 mmol) fueron separados por cromatografía quiral automatizada, preparativa de fase normal sobre una columna Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) eluyendo con 15%

de alcohol de isopropilo en hexano a una velocidad de flujo de 20 mL/min con. Las fracciones que contenían el primer pico fueron combinadas y concentradas en vacío, para suministrar un pico (99.9%) con un tiempo de retención de 7.971 minutos y fue aislado como un sólido blanco (224 mg, 56% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad teórica máxima de 400 mg). p.f. 184-187 °C; $[\alpha]_D^{25} = -665^\circ$ (c = 0.0104 g/mL, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 5.65 (m, J=6.73 Hz, 1 H) 6.16 (d, J=1.81 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 6.75 (d, J=9.83 Hz, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.04 (td, J=8.67, 2.59 Hz, 1 H) 7.33 (m, 2 H) 7.39 (m, 1 H) 7.90 (d, J=7.76 Hz, 1 H) 7.94 (dd, J=8.79, 6.21 Hz, 1 H) 9.62 (s, 1 H) 9.70 (s, 1 H); MS (ESI) m/z 350 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 348 ([M-H]⁻); HRMS: calculado para C₂₁H₁₆FNO₃, 349.1114 (M), 350.1187 ([M+H]⁺); encontrado (ESI⁺), 350.1181.

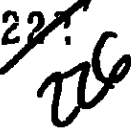
[0206] **Ejemplo 41:** Síntesis de 4-([(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)benceno-1,3-diol

[0207] Los enantiómeros de 4-[(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)benceno-1,3-diol (800 mg, 2.29 mmol) fueron separados por cromatografía quiral automatizada, preparativa de fase normal sobre una columna Chiralpak AS (20 mm x 250 mm) eluyendo con 15% de alcohol de isopropilo en hexano a una velocidad de flujo de 20 mL/min con. Las fracciones que contenían el segundo pico fueron combinadas y concentradas en vacío, para suministrar un pico (99.3%) con un tiempo de retención de 9.345 minutos y fue aislado como un sólido blanco (220 mg, 55% con base en una proporción de 1:1 de enantiómeros con una cantidad máxima teórica de 400 mg).

.p.f. 182-184 °C; $[\alpha]_D^{25} = +618^\circ$ (c = 0.0101 g/mL, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.16 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 5.65 (d, J=6.73 Hz, 1 H) 6.16 (d, J=1.81 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J=8.41, 2.20 Hz, 1 H) 6.75 (d, J=10.35 Hz, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.04 (td, J=8.60, 2.72 Hz, 1 H) 7.33 (m, 2 H) 7.39 (ddd, J=7.70, 6.79, 2.07 Hz, 1 H) 7.90 (d, J=7.50 Hz, 1 H) 7.94 (dd, J=8.79, 6.47 Hz, 1 H) 9.62 (s, 1 H) 9.70 (s, 1 H) MS (ESI) m/z 350 ([M+H]⁺); MS (ESI) m/z 348 ([M-H]⁻); HRMS: calculado para C₂₁H₁₆FNO₃, 349.1114 (M), 350.1187 ([M+H]⁺); encontrado (ESI+), 350.11817.

[0208] **Ejemplo 42:** Síntesis de 4-[(3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol

[0209] **Etapa A:** 4-Metoxi -N-(1 -(2',4,4'-trifluoro-1,1'-bifenil-2-il) etil)benzamida - A una solución agitada de 1-(2',4,4'-trifluoro-1,1'-bifenil-2-il)etilamina (0.71 g, 2.84 mmol) en diclorometano (5 mL) se trata con 4- metoxi benzil cloruro (0.51 g, 3.0 mmol), y N,N-diisopropiloetiloamina (0.77 g, 6.0 mmol). La reacción se agita a temperatura ambiente por 12 horas, y el solvente evaporado en vacío da un aceite crudo. El aceite crudo fue purificado por cromatografía preparativa líquida con columna preempacada de Mi Biotage® 40 de gel de sílice (90 g), eluyendo con un gradiente entre 5% y 50% de éter terc-butil metilo en hexano a un índice de 40 mL/min para proporcionar, después de evaporación del solvente, un aceite incoloro. La cristalización del aceite incoloro de acetato-hexano de etilo proporciona un rendimiento de (0.98 g, 2.54 mmol, 90%) de un compuesto titulado como un sólido cristalino, incoloro homogéneo. p.f. 163-165 °C; MS [(+ESI), m/z]: 386 [M+H]⁺; 1R (sólido), ν_{max} :

... 0 22: 

3257, 1620, 1606, 1503, 1329, 1249, 1175, 1032, 844, 777, 670 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.29 (d, $J = 5.4$ Hz, 3H), 3.80 (s, 3H), 4.93 (amplio s, 1H), 6.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.14 (td, $J = 8.5, 2.7$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J = 8.5, 5.9$ Hz, 2H), 7.37 (t, 2H), 7.46 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 8.66 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), existe como una mezcla de 2:1 de rotámeros; Anal, calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_2$: C, 68.57; H, 4.71; N, 3.63. Encontrado: C, 68.65; H, 4.80 N, 3.48.

[0210] **Etapla B:** 3,8-Disulfuro-5-(4-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina - Una solución agitada de 4-metoxi-N-[1-(2',4',4'-trifluoro-1,1'-bifenil-2-il)etil]benzamida (0.95 g, 2.46 mmoles) en tetrahidrofurano se trata bajo nitrógeno con una solución 1.0 M de bis(trimetilsilil)amida de litio en tetrahidrofurano (5 mL, 5.0 mmol) y se calienta a 70°C durante quince horas. La mezcla de reacción se disuelve en acetato de etilo y se lava secuencialmente con una solución de ácido clorhídrico al 1 N y agua. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio anhidrido, se filtra, y el solvente se remueve en vacío para lograr un sólido crudo. El sólido crudo se purifica por medio de cromatografía de líquido preparativa sobre Biotage® 40 Mi columna de gel sílice preempacado (90g), se eluye con un gradiente entre 3% y 15% de terc-butil éter de metilo en hexano para, después de la cristalización con etil acetato de hexano, el título del compuesto (0.36 g, 0.99 mmoles, 40%) como un sólido homogéneo, colorido y cristalino, p-f. $98-100^\circ\text{C}$; MS [(+ESI), m/z . 366 $[\text{M}+\text{H}]^+$; IR (sólido), ν_{max} : 2920, 1630, 1600, 1580, 1510, 1495, 1385, 1320, 1250, 870, 840, 810 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.22 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 3.77 (s, 3H), 5.73 (q, $J =$

0 223
201

6.7 Hz, 1H) 6.59 (dd, J= 10.3, 2.3 Hz, 1H), 6.90 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.07 (td, J= 8.6, 2.7 Hz, 1H), 7.27 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 7.27 (td, J= 8.5, 3.2 Hz, 1H), 7.39 (dd, J= 9.2, 2.7 Hz, 1H), 7.98 (dd, J= 8.9, 6.3 Hz, 1H), 8.02 (dd, J= 8.5, 5.4 Hz, 1H); Anal, calculado para C₂₂H₁₇F₂NO₂: C, 72.32; H, 4.69; N, 3.83. Encontrado: C, 71.82; H, 4.52; N, 3.76.

[0211] **Etapa C:** 4-[(3,8-Difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carboil]fenol - Una suspensión stirred de 3,8-difluoro-5-(4-metoxibenzil)-6-metil-5,6-dihidrofenantridina (0.20 g, 0.55 mmoles) y ciclohexano (1.64 g, 20.0 mmoles) se trata a temperatura ambiente bajo nitrógeno con una solución de tribromuro de boro en diclorometano (4.0 mL, 4.0 mmoles). Después de agitación durante aproximadamente dos horas a temperatura ambiente, la reacción se enfría a 20°C y se apaga con metanol (5 mL). El solvente se evapora en vacío en un aceite oscuro. El aceite oscuro se purifica mediante cromatografía líquida preparativa en Biotage® 40 Mi columna de gel sílice preempacado (90 g), se eluye con un gradiente entre 5% y 30% de terc-butil éter de metilo de hexano a una velocidad de flujo de 50 mL/min para lograr, después de la evaporación del solvente en vacío y la trituración con dietil éter-hexano, el título del compuesto (0.19 g, 0.54 mmoles, 99%) como un sólido amorfo y racémico, p-f 193-195 °C; MS [(+ESI), m/z]: 352 [M+H]⁺; MS [(-ESI), m/z]: 350 [M-H]⁻; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.21 (d, J= 7.0 Hz, 3H), 5.71 (q, J= 6.8 Hz, 1H), 6.55 (dd, J= 10.5, 2.5 Hz, 1H), 6.70 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.06 (td, J= 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.16 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.27 (td, J= 8.8, 2.7 Hz, 1H), 7.38 (dd, J= 9.2, 2.7 Hz,

1H), 7.97 (dd, J= 9.0, 6.4 Hz, 1H), 8.01 (dd, J= 9.1, 6.0 Hz, 1H), 10.04 (s, 1H).

[0212] **Ejemplo 43:** Síntesis de 4-([(6R)-3,8-Difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol*

[0213] Los enantiómeros de 4-[(3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol (0.15g, 0.43 mmoles) se separan por cromatografía quiral automatizada, preparativa, y de fase normal sobre una columna Chiralpak AD-H[®] (2 x 25 cm) eluyendo con etanol a una velocidad de flujo de 10 mL/min. Después de evaporación del solvente en vacío, el pico uno con una retención de tiempo de 6.0 minutos y monitoreado por detección ultravioleta produjo, después de trituración con dietil éter-hexano, 4-([(6R)-3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol* (0.05 g, 0.14 mmoles, 33%) como un sólido amorfo, sin color y homogéneo, m.p. 138-140°C; T_R = 6.0 minutos; [α]_D²⁵ = -560° (c = 10.0 mg/mL en CHCl₃); MS [(+ESI), m/z]: 352 [M+H]⁺; MS [(-ESI), m/z]: 350 [M-H]⁻; IR (sólido), ν_{max}: 3300, 1606, 1570, 1510, 1495, 1390, 1330, 1265, 1225, 870, 810 cm⁻¹; 1H RMN (400 MHz, DMSO-c₆d₆) δ: 1.21 (d, J= 6.8 Hz, 3H), 5.71 (q, J= 6.8 Hz, 1H), 6.55 (dd, J= 10.5, 2.5 Hz, 1H) 6.70 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.06 (td, J= 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.16 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.27 (td, J= 8.8, 2.7 Hz, 1H), 7.38 (dd, J= 9.2, 2.7 Hz, 1H), 7.07 (dd, J= 9.0, 6.4 Hz, 1H), 8.01 (dd, J= 9.0, 5.6 Hz, 1H), 10.06 (s, 1H); Anal, calculado para C₂₁H₁₅F₂NO₂: C, 71.79; H, 4.30; N, 3.99. Encontrado: C, 71.83; H, 4.96; N, 3.54.

0 225
225
225

La configuración estereoquímica no es absoluta y se asignó de manera arbitraria.

[0214] **Ejemplo 44:** Síntesis de 4-([(6S)-3,8-Difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol*

[0215] Los enantiómeros de 4-[(3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol (0.15g, 0.43 mmoles) se separan por cromatografía quiral automatizada, preparativa, y de fase normal sobre una columna Chiralpak AD-H[®] (2 x 25 cm) eluyendo con etanol a una velocidad de flujo de 10 mL/min. Después de evaporación del solvente en vacío, el pico dos con un tiempo de retención de 9.5 minutos y monitoreado por detección ultravioleta produjo, después de trituración con hexano, 4-([(6S)-3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol* (0.04 g, 0.11 mmoles, 26%) como un sólido homogéneo, sin color y amorfo, p.f. 135-138 °C; TR = 9.5 minutes; $[\alpha]_D^{25} = +561^\circ$ (c = 10.0 mg/mL en CHCl₃); MS [(+ESI), m/z]: 352 [M+H]⁺; MS [(-ESI), m/z\]. 350 [M-H]⁻; IR (sólido), $\nu_{\max}$: 3300, 1606, 1570, 1510, 1495, 1390, 1330, 1265, 1225, 870, 810 cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1.21 (d, J= 6.8 Hz, 3H), 5.71 (q, J= 6.8 Hz, 1H), 6.55 (dd, J= 10.4, 2.6 Hz, 1H), 6.70 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.06 (td, J= 8.7, 2.6 Hz, 1H), 7.16 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.27 (td, J= 8.8, 2.7 Hz, 1H), 7.38 (dd, J= 9.1, 2.6 Hz, 1H), 7.97 (dd, J= 8.7, 6.4 Hz, 1H), 8.01 (dd, J= 8.8, 5.5 Hz, 1H), 10.05 (m, 1H); Anal, calculado para C₂₁H₁₅F₂NO₂: C, 71.79; H, 4.30; N, 3.99. Encontrado: C, 70.68; H, 4.50; N, 3.69.

*La configuración estereoquímica no es absoluta y se asignó de manera arbitraria.

[0216] **Ejemplo 45:** Síntesis de 4-{[(6R)-3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}-2-fluorofenol

[0217] 4-{[(6R)-3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}-2-fluorofenol se prepara de una manera similar a lo presentado en el ejemplo 42. Este se purificó por HPLC quiral.
[a]_D²⁵ = -453.7° (c = 10 mg/mL, MeOH); MS (ES) m/z 369.8.

Ejemplo 46:

[0218] Compuestos representativos de esta invención fueron evaluados en los siguientes procedimientos de ensayo farmacológico estándar los cuales demostraron actividad anti inflamatoria. Los procedimientos de ensayo usados y los resultados obtenidos se describen brevemente adelante.

Procedimientos de Ensayo:

Células

[0219] Frascos T-175 de 100% de células HAECT-1 confluentes (células endoteliales aórticas humanas inmortalizadas) se lavan con 8 ml de HBSS (solución salina amortiguada con HEPES) y se infectan durante cuatro horas con 6 ml de una dilución 1:10 del virus Ad5-wt-hERα (un vector de transfección de adenovirus que media la expresión accionada por el promotor CMV del ERα humano) en un medio Basal de Células Endoteliales libres de rojo fenol

0 227
231

(Clonetics, San Diego CA, Catálogo #CC-3129) que contiene 0.25% de albúmina de suero bovino (EBM-BSA). Después de cuatro horas, las células se lavan con EBM-BSA e incubadas durante la noche en el mismo medio. Luego de la incubación durante la noche, las células se lavan con EBM-BSA e infectan durante 2 horas con 6 ml de una dilución 1:10 del virus Ad5-3x(NFκB).Luc (un vector de expresión de luciferasa del adenovirus accionado por 3 repeticiones del sitio 5' del MHC NFκB al promotor de timidita quinasa) en EBM-BSA. Después de dos horas, las células se lavan, y se incuban a 34°C durante 1 hora. Las células fueron entonces lavadas, tripsinizadas, contadas y resuspendidas en 95% de FBS / 5% de dimetilsulfoxido en una concentración de 4×10^6 células/ml, congeladas como alícuotas de 1 o 5 en crio-frascos y se almacenan a -150°C. Las células de control (sin infección ER) se procesan como anteriormente sin la infección del virus Ad5-wt-hERα.

Ensayos de IL-6 y Creatina Quinasa

[0220] Las células HAECT-1 infectadas con Erα o las células de control se descongelan, se diluyen en 42x en EBM-BSA caliente, se colocaron en placas de 96 pozos a 0.1 ml/pozo y se incuban durante 4h a 34°C. Los compuestos de ensayo se agregan a las células como 2x material de partida en EBM-BSA que contiene 2 ng/ml del virus IL-1β Ad5-IL-6(1250bp).Luc y las placas se regresaron a la incubadora (34°C). Después de 15-20 h, las células se lizaron con 50 µl del reactivo Promega Cell Culture Lysis durante aproximadamente 5 minutos a temperatura ambiente en un agitador. Después de lizar, 15 µl del lisato se transfiere a unas placas de luminómetro para la determinación de la

C 228
232

luciferasa. La actividad de la luciferasa se evalúa usando un contador multimarca Perkin Elmer Victor2 1420. La creatina quinasa se determina de la rata de incremento en A_{340} seguido por la adición de 100 μ L del reactivo de ensayo CK (Sigma, cat. No 47-10) al resto del lisato de célula.

Análisis de los datos

[0221] Para los cálculos de IC_{50} y EC_{50} , IL-6 promedio, luciferasa o los valores de CK contra el $\log_{10}$ de la concentración del compuesto se ajustaron a cuatro ecuaciones logísticas de parámetro. El valor IC_{50}/EC_{50} , la "pendiente Hill", los límites superior e inferior de la curva se estimaron iterativamente.

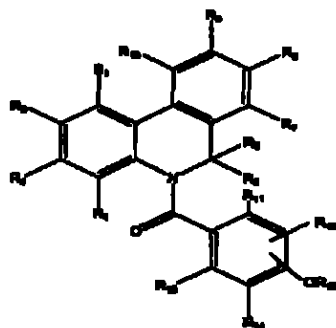
Ratones

[0222] Ratones C57BL/6 ovariectomizados (16-20 g) (Taconico) se separan en grupos de 8. Después de 5-7 días de recuperación, los ratones se alimentan con una dieta de masticar o una dieta aterogénica (15.75% de grasa, 1.25% de colesterol y 0.5% de colato de sodio) (Dieta purina #21539). El compuesto de ensayo o el compuesto EE se administra una vez diariamente mediante alimentación forzosa en un vehículo de metilcelulosa/tween (0.1 ml por ratón) durante 5 semanas. Al final del período experimental, el hígado se recolectó y el peso húmedo uterino se registró.

0-283
233Análisis de ARN

[0223] El ARN total del hígado se preparó mediante el uso del reactivo Trizol (BRL). La regulación de estrógeno y del compuesto de los genes objetivo NF- κ B, se verifican por tiempo real RT-PCR usando un Sistema de Detección de Secuencia ABI PRISM 7700 de acuerdo con el protocolo del fabricante (Applied Biosystems). Los datos se analizan utilizando el Sequence Detector v1.7 software (Applied Biosystems) y se normalizan a GAPDH usando el conjunto principal de Applied Biosystems.

[0224] La tabla siguiente resume los resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar descritos anteriormente:



0 231
234

Ejemplo #	Stereo	R2	R7	R9	R10	R11	R12	R13	IL6-Inc IC ₅₀ nM (%E2)	CK EC ₅₀ nM (%E2)
3	1		F	Me		OH			414 (114%)	
2	1		F	Me			OH		38 (53%)	IA
1	1		F	Me			OH		5 (100%)	IA
31	1	Cl		Me	OH		OH		3 (87%)	IA
32	1	Cl		Me	OH		OH		789 (125%)	IA
20	1		F	Et			OH		6 (95%)	IA
19	1		F	Et			OH		85 (88%)	IA
4	1		F	Me		OH			47 (102%)	IA
5	1		F	Me	F		OH		9 (97%)	IA
6	1		F	Me	F		OH		403 (90%)	IA
24	racemic	Cl		Me		OH			Not tested	
25	1	Cl		Me		OH			9 (103%)	141 (26%)
26	1	Cl		Me		OH			377 (49%)	IA
27	racemic	Cl		Me			OH		Not tested	
28	1	Cl		Me			OH		6 (120%)	69 (32%)
29	1	Cl		Me			OH		1000 (75%)	IA
7	1		F	Me	F			OH	263 (70%)	IA
8	1		F	Me	F			OH	IA	IA
33	racemic	F		Me		OH			Not tested	
34	1	F		Me		OH			11 (188%)	IA
35	1	F		Me		OH			IA	
36	racemic	F		Me			OH		Not tested	
37	1	F		Me			OH		6 (114%)	28 (20%)
38	1	F		Me			OH		IA	
39	racemic	F		Me	OH		OH		Not tested	
40	1	F		Me	OH		OH		1 (107%)	8 (20%)
41	1	F		Me	OH		OH		272 (88%)	IA
22	1		F	Et	OH		OH		2 (106%)	3 (38%)
21	1		F	Et		OH			40 (134%)	50% @ 1 μM
10	1		F	Me		F	OH		1473 (68%)	IA

Ejemplo #	Stereo	R2	R7	R9	R10	R11	R12	R13	IL6-Inc IC ₅₀ nM (%E2)	CK EC ₅₀ nM (%E2)
9	1		F	Me		F	OH		31 (81%)	IA
23	racemic		F	Et	F		OH		1 (107%)	IA
17	1		F	Me		O-	OH		364	IA

						Me			(113%)	
18	1		F	Me		O-Me	OH		IA	
11	1		F	Me		OH	Cl		271 (107%)	307(-29%)
12	1		F	Me		OH	Cl		IA	
13	1		F	Me		Br	OH		51 (102%)	IA
14	1		F	Me		Br	OH		IA	
15	1		F	Me	Br			OH	301 (76%)	IA
16	1		F	Me	Br			OH	832 (91%)	IA
42	racemic	F	F	Me			OH		4.5 (95%)	90 (37%)
43	1	F	F	Me			OH		1.5 (147%)	
44	1	F	F	Me			OH		130 (132%)	

... 0 231
235

Si no se indica lo contrario, los sustituyentes R_1 - R_{14} representan hidrógeno.

[0225] E2 inhibe la expresión de NF- κ B e IL-6 en las células HAECT-1 infectadas con Ad5-wt-ER con un valor IC_{50} alrededor de 1 nM e induce la expresión de creatina quinasa en las mismas células con potencia similar (5.8 nM). En contraste, los compuestos preferidos de la presente invención de manera potente y eficaz inhiben la expresión de NF- κ B e IL-6 en las células HAECT-1 infectadas con Ad5-wt-ER pero no inducen expresión de CK de una manera dependiente de ER. La habilidad de los compuestos preferidos de la presente invención para inhibir la expresión de NF- κ B e IL-6 sin inducir la actividad CK demuestra la actividad anti-inflamatoria en la ausencia de la actividad estrogénica clásica.

[0226] Con base en los resultados obtenidos en los procedimientos de ensayo farmacológico estándar, los compuestos de esta invención son compuestos selectivos anti-inflamatorios útiles para el tratamiento y la prevención de enfermedades inflamatorias crónicas sin estimular la proliferación uterina y de células de pecho como se encuentra con los estrógenos clásicos.

[0227] **Ejemplo 47:** Los procesos detallados más adelante son ilustrativos de procesos para evaluar los compuestos de la presente invención.

236
287

Evaluación del compuesto de ensayo usando el procedimiento de ensayo ERE-reportero en células de cáncer de pecho MCF-7

[0228] Soluciones de partida de los compuestos de ensayo (usualmente 0.1 M) se preparan en DMSO y luego se diluyen 10 a 100 veces con DMSO para hacer las soluciones de trabajo de 1 o 10 mM. Los materiales DMSO se almacenan a 4°C (0.1 M) o a -20°C (<0.1M). Las células MCF-7 se pasean dos veces por semana con un medio de crecimiento [medio D-MEM/F-12 que contiene 10% (v/v) de suero bovino fetal inactivado por calor, 1% (v/v) de Penicilina-Estreptomicina, y 2mM de glutaMax-1]. Las células se mantienen en frascos ventilados a 37°C al interior de una incubadora de aire humidificado con 5% de CO₂/95%. Un día antes del tratamiento, las células son plaqueadas con el medio de crecimiento en 25,000 células/pozo en placas de 96 pozos que se incuban a 37°C durante la noche.

[0229] Las células se infectan durante 2 hr a 37°C con 50 µl/pozo de una dilución 1:10 del adenovirus 5-ERE-tk-luciferasa en el medio experimental [D-MEM/F-12 libre de fenol rojo que contiene el medio 10% (v/v) de suero bovino fetal cortado en carbón inactivado por calor, 1% (v/v) de Penicilina-Estreptomicina, 2 mM de glutaMax-1, 1 mM de piruvato de sodio]. Los pozos son entonces lavados una vez con 150 µl del medio experimental. Finalmente, las células son tratadas durante 24 hr a 37°C en replicados de 8 pozos/tratamiento con 150 µl/pozo del vehículo (≤0.1% v/v de DMSO) o del compuesto que se diluye ≥ 1000 veces en el medio experimental.

B7

[0230] El tamizado inicial de los compuestos de ensayo se hace a una dosis única de 1 μ M que se ensaya solo (modo agonista de receptor de estrógeno) o en combinación con 0.1 nM 17 β -estradiol (EC_{50} ; modo antagonista de receptor de estrógeno). Cada una de las placas de 96 pozos también incluye un grupo de control de vehículo (0.1% v/v de DMSO) y un grupo de control del agonista de receptor de estrógeno (sea 0.1 0 1 nM 17 β -estradiol). Los experimentos dosis-respuesta se llevan a cabo sea en los modos agonista de receptor de estrógeno y/o antagonista de receptor de estrógeno sobre compuestos activos en incrementos logarítmicos de 10^{-14} a 10^{-5} M. A partir de estas curvas de dosis-respuesta, los valores EC_{50} e IC_{50} , respectivamente, se generan. El pozo final en cada grupo de tratamiento contiene 5 μ l de 3×10^{-5} M de ICI-182,780 (10^{-6} M de concentración final) como un control antagonista del receptor de estrógeno.

[0231] Después del tratamiento, las células son lizadas en un agitador durante 15 min con 25 μ l/pozo de reactivo de lisis de cultivo de células 1X (Promega Corporation). Los lisatos de célula (20 μ l) se transfieren a una placa de luminómetro de 96 pozos, y la actividad de la luciferasa es medida en un luminómetro MicroLumat LB 96P (EG & G Berthold) usan 100 μ l/pozo de sustrato de luciferasa (Promega Corporation). Antes de la inyección del sustrato, una segunda medida de fondo se hace para cada pozo. Siguiendo la inyección del sustrato, la actividad de la luciferasa se mide durante 10 segundos después de 1 segundo de retardo. Los datos se transfieren del luminómetro a una computadora personal Macintosh y analizados usando el software JMP (SAS Institute); este programa resta la lectura de respaldo

de las medidas de la luciferasa para cada pozo y luego determina el promedio y la desviación estándar de cada tratamiento.

[0232] Los datos de la luciferasa son transformados por logaritmos, y el estimador M de Huber se usa para establecer el peso de las observaciones transformadas que resultan. El software JMP se usa para analizar los datos transformados y pesados de acuerdo con ANOVA de una vía (ensayo de Dunnett). Los tratamientos del compuesto son comparados a los resultados del control de vehículo en el modo agonista del receptor de estrógeno, o los resultados del control de agonista de receptor de estrógeno positivos (0.1 nM 17 β -estradiol) en el modo antagonista de receptor de estrógeno. Para el experimento inicial de dosis única, si los resultados del tratamiento del compuesto son significativamente diferentes del control apropiado ($p < 0.05$), entonces los resultados se reportan como el porcentaje relativo al control 17 β -estradiol [es decir, $((\text{compuesto} - \text{control de vehículo}) / (17\beta\text{-control de estradiol} - \text{control de vehículo})) \times 100$]. El software JMP también se usa para determinar los valores EC₅₀ y/o IC₅₀ de las curvas no lineales de dosis-respuesta.

Evaluación de la actividad uterotrópica

[0233] La actividad uterotrópica de un compuesto de ensayo se puede medir de acuerdo con los siguientes procedimientos de ensayo farmacológicos estándar.

[0234] Procedimiento 1: ratas Sprague-Dawley inmaduras sexualmente (18 días de edad) se obtienen de Taconic y provistas

con acceso no restringido a una dieta a base de caseína (Purina Mills 5K96C) y agua. En los días 19, 20 y 21 las ratas se dosifican subcutáneamente con 17α -etinil- 17β -estradiol (0.06 $\mu\text{g/rata/día}$), el compuesto de ensayo o vehículo (50% de DMSO/50% de PBS Dulbecco). Para determinar el antagonista receptor de estrógeno, los compuestos se coadministran con 17α -etinil- 17β -estradiol (0.06 $\mu\text{g/rata/día}$). Existen seis ratas/grupo y ellas se eutanizan aproximadamente 24 horas después de la última inyección mediante asfixia por CO_2 y neumotórax. Los úteros se remueven y se pesan después de quitarles la grasa asociada y exprimir cualquier fluido interno. Una muestra de tejido también se puede congelar para el análisis de la expresión del gen (por ejemplo, factor complemento 3 de mRNA).

[0235] Procedimiento 2: ratones 129 SvE inmaduros sexualmente (18 días de edad) se obtienen de Taconic y se les suministra acceso no restringido a una dieta a base de caseína (Purina Mills 5K96C) y agua. En los días 22, 23, 24 y 25 los ratones se dosifican subcutáneamente con el compuesto o el vehículo (aceite de maíz). Existen seis ratones/grupo y ellos se eutanizan aproximadamente 6 horas después de la última inyección mediante asfixia por CO_2 y neumotórax. Los úteros se remueven y se pesan después de quitarles la grasa asociada y exprimir cualquier fluido interno.

Evaluación de la osteoporosis y la modulación de lípidos
(cardioprotección)

... 0 238
240

[0236] Ratas Sprague-Dawley hembra, ovariectomizadas u operadas, son obtenidas 1 día después de cirugía de las Fincas Taconic (rango de peso 240 -275 g). Ellas se encierran 3 o 4 ratas/jaula en un cuarto con una programación de 12/12 (luz/oscuridad) y se le suministra con comida (Purina 5K96C de rata) y agua ad libitum. El tratamiento para todos los estudios se inicia en el día 1 después de la llegada y las ratas se dosificaron 1 día por semana como se indicó durante 6 semanas. Un grupo de ratas operadas de la misma edad que no recibieron ningún tratamiento sirven como un grupo de control repleto de estrógeno intacto para cada estudio.

[0237] Todos los compuestos de ensayo se preparan en un vehículo de 50% de DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/ 1 x salina de fosfato Dulbecco (GibcoBRL, Grand Island, NY) en concentraciones definidas de modo que el volumen de tratamiento es 0.1 mL/100 g de peso del cuerpo. 17 β -estradiol se disuelve en aceite de maíz (20 μ g/mL) y se suministra subcutáneamente, 0.1 mL/rata. Todas las dosificaciones se ajustan con intervalos de tres semanas de acuerdo con las medidas de peso del cuerpo promedio del grupo, y se dan subcutáneamente.

[0238] Cinco semanas después de la iniciación del tratamiento y una semana antes de la terminación del estudio, cada rata se evalúa en cuanto a la densidad mineral del hueso (BMD). La densidad total y trabecular de la tibia próxima se evalúan en ratas anestesiadas usando un XCT-960M (pQCT; Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Alemania). Las medidas se llevan a cabo como sigue: quince minutos antes del barrido, cada rata es

0 287
241

anestesiada con una inyección intraperitoneal de 45 mg/kg de zetamina, 8.5 mg/kg de xilazina, y 1.5 mg/kg de acepromazina.

[0239] El miembro trasero derecho se pasa por un tubo de policarbonato con un diámetro de 25 mm y encintado a un macro de acrílico con la articulación del tobillo a un ángulo de 90° y la articulación de la rodilla a 180°. El tubo de policarbonato esta fijo a una plataforma deslizante que lo mantiene perpendicular a la abertura del pQCT. La plataforma se ajusta de modo que el extremo distante del fémur y el extremo próximo de la tibia están en el campo de barrido. Una vista de dos exploraciones dimensionales se corre en una longitud de 10 mm y una resolución de línea de 0.2 mm. Después de que la vista de exploración se muestra en el monitor, el extremo próximo de la tibia se localiza. El barrido pQCT se inicia a 3.4 mm de distancia de este punto. El barrido pQCT es de 1 mm de grueso, tiene un tamaño voxel (tres dimensionales de píxel) de 0.140 mm, y consiste de 145 proyecciones por tajada.

[0240] Después de que el barrido pQCT se completa, la imagen se muestra en el monitor. Una región de interés que incluye la tibia pero que excluye la fíbula se muestra. El tejido suave se remueve matemáticamente usando un algoritmo iterativo. La densidad del hueso restante (densidad total) se reporta en mg/cm³. El 55% exterior del hueso se pela matemáticamente y se retira en un espiral concéntrico. La densidad del hueso restante (densidad trabecular) se reporta en mg/cm³.

... 0 283
242

[0241] Una semana después de la evaluación BMD las ratas se eutanizan por asfixia de CO₂ y neumotórax, y se recolecta la sangre para la determinación del colesterol. Los úteros también se remueven y se pesan después retirarles la grasa asociada y exprimir cualquier fluido luminal. El colesterol total se determina usando un analizador clínico 911 Boehringer-Mannheim Hitachi usando el kit de Colesterol/HP. Las estadísticas se comparan usando un análisis de una vía de la varianza con el ensayo Dunnet.

Evaluación de la actividad antioxidante

[0242] Aortas porcinas se obtienen de un matadero, se lavan, se transportan en PBS frío, y las células endoteliales aórticas se cosechan. Para cosechar las células, los vasos intercostales de la aorta se amarran y un extremo de la aorta es tapada. Colagenaza al 0.2% estéril filtrada y fresca (Sigma Tipo I) se coloca en el vaso sanguíneo y el otro extremo del vaso es entonces cerrado para formar un sistema cerrado. La aorta se incuba a 37°C durante 15-20 minutos, después de lo cual la solución de colagenaza se recolecta y se centrifuga durante 5 minutos a 2000 x g. Cada gránulo se suspende en 7 mL de medio de cultivo celular endotelial que consiste de DMEM libre de fenol rojo/F12 de Ham como medio suplementado con FBS curado con carbón (5%), NuSerum (5%), L-glutamina (4 mM), penicilina-estreptomicina (1000 U/ml, 100 µg/ml) y gentamicina (75 µg/ml), sembrados en un plato petri de 100 mm e incubados a 37°C en 5% de CO₂. Después de 20 minutos, las células se enjuagan con PBS y se agrega el medio fresco, esto se repitió nuevamente a las 24 horas. Las células

- - 0 284
243

son confluentes después de aproximadamente una semana. Las células endoteliales se alimentan rutinariamente dos veces por semana, y cuando son confluentes, se tripsinizan y se siembran a una proporción de 1:7. La oxidación mediada por las células de 12.5 µg/mL de LDL se permite para proceder en la presencia del compuesto a evaluarse (5 µM) durante 4 horas a 37°C. Los resultados se expresan como el porcentaje de inhibición del proceso oxidativo como medida por el método TBARS (sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico) para el análisis de los aldehídos libres (Yagi, Biochemical Medicine 15: 212-6(1976)).

Procedimiento de ensayo farmacológico estándar para la regulación del receptor de progesterona en mRNA

[0243] Este procedimiento de ensayo se puede utilizar para evaluar la actividad estrogénica o antiestrogénica de los compuestos de esta invención (Shughrue, et al., Endocrinology 138: 5476-5484 (1997)).

Procedimiento de Ensayo de Enjuagado en Caliente de Rata

[0244] El efecto de los compuestos de ensayo en lavados en caliente se puede evaluar en un procedimiento de ensayo farmacológico estándar que mide la habilidad de un compuesto de ensayo para entorpecer el incremento en la temperatura de la piel de la cola que ocurre a medida que las ratas adictas a la morfina son retiradas agudamente de la droga usando naloxona (Merchenthaler, et al., Maturitas 30: 307-16 (1998)). Éste también se puede usar para detectar la actividad del antagonista

D 247
2AA.

de receptor de estrógeno mediante co-dosificar el compuesto de ensayo con el estrógeno de referencia.

Evaluación de la función vasomotor en anillos aórticos aislados de rata

[0245] Ratas Sprague-Dawley (240-260 gramos) se dividen en 4 grupos:

1. Normales no ovariectomizadas (intactas)
2. Ovariectomizadas (ovex) tratadas con vehículo
3. Ovariectomizadas tratadas con 17β -estradiol (1 mg/kg/día)
4. Animales ovariectomizados tratados con el compuesto de ensayo (varias dosis).

[0246] Los animales son ovariectomizados aproximadamente 3 semanas antes del tratamiento. Cada animal recibe sea sulfato de 17β estradiol (1 mg/kg/día) o el compuesto de ensayo suspendido en agua destilada, desionizada con 1% de tween-80 mediante alimentación forzosa gástrico. Los animales tratados con el vehículo recibieron un volumen apropiado de vehículo que se usa en los grupos tratados con la droga.

[0247] Los animales se eutanizan por inhalación de CO_2 y de sangre. Las aortas torácicas se remueven rápidamente y se colocan en una solución fisiológica a 37°C con la siguiente composición (mM): NaCl (54.7), KCl (5.0), NaHCO_3 (25.0), $\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2.5), D-glucosa (11.8) y CaCl_2 (0.2) gasificadas con CO_2 - O_2 , 95%/5% para un pH final de 7.4. La adventicia se remueve de la superficie externa y los vasos se cortan en anillos de 2-3 mm de ancho. Los

242
245

anillos se suspenden en un baño de tejido de 10 mL con un extremo sujetado en la parte inferior del baño y el otro a un transductor de fuerza. Una tensión de reposo de 1 gramo se coloca en los anillos. Los anillos son equilibrados durante 1 hora, y las señales son adquiridas y analizadas.

[0248] Después de de equilibrio, los anillos son expuestos a concentraciones incrementales de feniletrina (10^{-8} a 10^{-4} M) y la tensión es registrada. Los baños son entonces enjuagados tres veces con amortiguador fresco. Después de los lavados, se agregó 200 mM de L-NAME baño de tejido y se equilibró durante 30 minutos. La curva de respuesta de la concentración de feniletrina es entonces repetida.

Evaluación de la actividad cambio protectora

[0249] Ratones deficientes en Apolipoproteína E (C57/BIJ (apo E KO) son obtenidos de las cintas Lacónicas. Todos los procedimientos en los animales se llevan a cabo bajo cumplimiento estricto con las instrucciones IACUC. Ratones hembras apo EKO Ovariectomizadas, de 4 a 7 semanas de nacidas, son encerradas en jaulas de caja de zapatos y se les permite acceso libre a comida y agua. Los animales son clasificados aleatoriamente por peso en grupos (n= 12 a 15 ratones por grupo). Los animales se les ha dosificado con los compuestos de ensayo o el estrógeno (sulfato de 17β -estradiol en a 1 mg/kg/día en la dieta usando un protocolo de clasificación precisa en donde la cantidad de la dieta consumida es medida semanalmente y la dosis es ajustada de acuerdo a lo anterior, con base en el peso del animal. La dieta

246

usada es una dieta estilo Western (57U5) que es preparada por purina y contiene 0.50% de colector, 20% de manteca de cerdo y 25 IU/KG de vitamina E. Los animales son dosificados/alimentados usando este paradigma durante un periodo de 12 semanas. Los animales de control son alimentados con la dieta estilo Western y no reciben ningún compuesto. Al final del periodo de estudio, los animales son eutanizados y se obtienen muestras de plasma. Los corazones son perfundidos in situ, primero con salina y luego con una solución de formalina al 10% amortiguada neutra.

[0250] Para la determinación de los lípidos de plasma y las lipoproteínas, el colesterol total y los triglicéridos son determinados usando los métodos enzimáticos con los kits disponibles comercialmente de Boehringer Mannheim y Wako Biochemical, respectivamente y analizados usando el analizador Boehringer Mannheim Hitachi 911. La separación y cuantificación de las lipoproteínas de plasma se llevó a cabo usando la fraccionación de tamaño FPLC. Brevemente, 50 a 100 ml de suero es filtrado e inyectado en columnas Superose 12, y superose 6 conectada en serie y eluidas a una velocidad de flujo constante con un mM de EDTA de sodio y 0,15 M de NaCl. Las áreas de cada curva que representan VLDL, LDL y HDL son integradas usando el software Waters millenniumTM y cada fracción de lipoproteína es cuantificada mediante multiplicar el valor del colesterol total por el área porcentual relativa de cada cromatograma respectivo.

[0251] Para la cuantificación de la aterosclerosis aórtica, las aortas son aisladas cuidadosamente y colocadas en formalina fixativa durante 48 a 72 horas antes de su manipulación. Las

lesiones ateroscleróticas son identificadas usando el manchado con Aceite Rojo O. Los vasos son desmanchados brevemente, y entonces vistos por imagen usando el microscopio Nikon SMU800 ajustado con un sistema de cámara de video Sony 3CCD en concierto con la IMAQ Configuration Utiliti (Nacional Instrument) como el software de captura de imagen. Las lesiones son cuantificadas en cara a lo largo del arco aórtico usando un paquete de software de utilidad de umbral adaptado (Coleman Technologies). La determinación de la lesión automatizada es llevada a cabo sobre los vasos usando la función de umbral del programa, específicamente sobre la región contenida dentro del arco aórtico desde el borde próximo desde el tronco braquicefálico al borde distal de la arteria subclaviana izquierda. Los datos de aterosclerosis aórtica son expresados como porcentaje de involucramiento de la lesión estrictamente dentro de esta área luminal definida.

Evaluación del Mejoramiento de la Comisión

[0252] las ratas Ovariectomizadas ($n = 50$) habituadas a un laberinto de brazo radial de 8 brazos durante periodos de 10 minutos durante cada uno de los 5 días consecutivos. A los animales se les priva de agua antes de su habituación y ensayo, Una alicota de 100 μ l de agua colocada en los extremos de cada brazo sirve como refuerzo, La adquisición de una tarea de cambio por ganancia en el laberinto de brazo radial se lleva a cabo permitiendo que los animales tengan acceso a un brazo con comida. Después de tomar, los animales salen del brazo reingresan al compartimiento central, en donde ahora tienen acceso al brazo

241

previamente visitado o a un brazo nuevo. Una respuesta correcta es registrada cuando el animal escoge ingresar en un brazo nuevo. Cada animal se le dan 5 ensayos por día durante 3 días. Después del último ensayo de adquisición, los animales son asignados a uno de los siguientes 4 grupos:

1. Controles Negativos: inyectados con 10% de DMSO/aceite de sésamo como vehículo una vez diariamente durante 6 días (1 ml/kg, SC).
2. Controles positivos: inyectados con benzoato de 17β -estradiol durante 2 días y ensayado 4 días después de la segunda inyección (benzoato de 17β -estradiol a 10 μ g /0,1 ml por rata).
3. Estradiol: 17β -estradiol serán inyectados diariamente durante 6 días (20 μ /kg, SC)
4. Compuesto de ensayo: inyectado diariamente durante 6 días (dosis varias).

[0253] Todas las inyecciones se iniciaron después del ensayo en el último día de adquisición. La última inyección para los grupos 1, 3, y 4 tomará lugar dos horas antes del ensayo para el trabajo de memoria.

[0254] Los ensayos para el trabajo de memoria es un a tarea de no case a la muestra retardada (DNMS) utilizando retardos de 15, 30 o 60 segundos. Esta tarea es una variación de la tara de adquisición en la cual la rata es colocada en la arena central y se le permite entrar en un brazo como antes. Un segundo brazo es abierto una vez que la rata atraviesa la mitad del camino del

0 2/5
29

primer brazo, y nuevamente a la rata se le requiere escoger este brazo. Cuando ella ha viajado la mitad del camino de este segundo brazo, ambas puertas son cerradas y el retardo es instituido. Una vez que el retardo está expirado, ambas de las dos puertas originales, y una tercera puerta novedosa, son abiertas simultáneamente. Una respuesta correcta es registrada cuando el animal viaja a la mitad a la mitad del camino de la tercera puerta nueva. Una respuesta incorrecta es registrada cuando el animal viaja la mitad del camino sea por el primero o el segundo brazo. Cada animal recibe 5 ensayos en cada uno de los tres intervalos de retardo durante un total de 15 ensayos por sujeto.

Evaluación del Efecto en la Pleuresía.

[0255] La habilidad para reducir los síntomas de la pleuresía inducida experimentalmente en las ratas puede ser evaluada de acuerdo con el procedimiento de Cuzzocrea (Endocrinology 141: 1455-63 (2000)).

Evaluación de la Protección contra la citotoxicidad inducida por el glutamato (neuroprotección).

[0256] La actividad neuroprotectora de los compuestos de esta invención puede ser evaluada en un procedimiento de ensayo farmacológico estándar in Vitro usando una infección por glutamato (Zaulyanov, et al., Cellular & Molecular Neurobiology 19: 705-18 (1999); Prokai, et al., Journal of Medicininal Chemistry 44: 110 -4 (2001)).

Evaluación en el procedimiento de ensayo en el Extremo Mamario

[0257] Los estrógenos son requeridos para una elongación total completa y una ramificación de los conductos mamarios, y el desarrollo subsecuente de los botones de extremo alveolares bajo la influencia de la progesterona. En este procedimiento de ensayo, la actividad mamotrófica de los compuestos seleccionados de la invención pueden ser evaluados de acuerdo con el siguiente procedimiento de ensayo farmacológico estándar. Ratas Sprague Dawley de veintiocho semanas de nacida (Taconic Farms, Germantown, NY) son ovariectomizadas y se les deja descansar durante 9 días. Los animales son encerrados bajo un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad, alimentados con una Dieta 5K96 (Purina Laboratory Rodent Diet con base en caseína (Purina, Richmond, IN) y se les permitió libre acceso al agua. Las ratas fueron entonces dosificadas subcutáneamente durante 6 días con un vehículo (50% DMSO) (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/50% de 1 x de salina amortiguada con fosfato Dulbecco (GibcoBRL, Grand Island NY), 17 β -estradiol (0.1 mg/kg) o el compuesto de ensayo (20 mg/kg). Para los 3 días finales las ratas son también dosificadas subcutáneamente con progesterona (30 mg/kg). En el séptimo día, las ratas son eutanizadas y las almohadillas de grasa de las mamas son cortadas. Esta almohadilla de grasa es analizada en cuanto al, ARN de la caseína quinasa II como un marcador de la proliferación del botón de extremo. El mRNA de la caseína quinasa II es analizado por RT-PCR en tiempo real. Brevemente, el ARN es aislado luego del Trizol (GibcoBRL, Grand Island, NY) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, las muestras son tratadas con ADNasa I usando el kit libre de ADN (Ambion) y los niveles de

0 247
251

mARN de la caseína quinasa II son medidos por RT-PCR en tiempo real usando el procedimiento Taqman Gold (PE Applied Biosystems). Un total de 50 ng de ARN es analizado en triplicado usando los pares cebadores específicos de caseína quinasa II (cebador 5', CACACGGATGGCGCATACT (SEQ ID NO 1); cebador 3', CTCGGGATGCACCATGAAG (SEQ ID NO 2)); y la probeta adaptada (TAMRA-CGGCACTGGTTTCCCTCACATGCT-FAM (SEQ ID NO 3)). Los niveles de mARN de caseína quinasa II son normalizados a 18s ribosomal de ARN contenidos contra reacción de muestra usando los cebadores y la probeta suministrada por PE Applied Biosystem.

Evaluación en el Procedimiento de Ensayo Farmacológico Estándar HLA de Rata para la Enfermedad Inflamatoria del Intestino.

[0258] Compuestos representativos pueden ser evaluados en el procedimiento de ensayo farmacológico estándar HLA de rata que estimula la enfermedad inflamatoria de los intestinos en humanos. Lo siguiente describe brevemente el procedimiento usado y los resultados obtenidos. Ratas macho HLA-B27 son obtenidas de Taconic y provistas con un acceso no restringido al alimento (PMI Lab diet 5001) y agua. Las ratas son dosificadas subcutáneamente una vez por día con un vehículo (50% DMSO/50% 1x Salina Amortiguada con Sulfato Dulbeco) o el compuesto de ensayo (0,1 a 10 mg/kg) durante por lo menos una semana. La calidad Stool es observada diariamente y graduada de acuerdo con la siguiente escala: diarrea = 3; deposición suave 2; deposición normal = 1. Al final del estudio, el suero es recolectado y almacenado a -70°C. Una sección del colón es preparada para el análisis

histológico y un segmento adicional es analizado en cuanto a la actividad de la mieloperoxidasa.

[0259] Para el análisis histológico, el tejido colónico es sumergido en 10% de formalina amortiguada neutra. Cada espécimen de colón es preparado en 4 muestras para la evaluación. Los tejidos que fijan la formalina son procesados en un procesador de infiltración a vacío de Tissue Tek (Miles, Inc; West Haven, Connecticut) para la infiltración de parafina. Las muestras son seccionadas en 5 µm y luego Manchadas con hematoxilina y eosina. (H&E) para las evaluaciones histológicas ciegas usando una escala modificada después de Boughton -Smith. Luego de que los registros son completados las muestras se destapan, y los datos son tabulados y analizados por el modelo ANOVA lineal con comparaciones y promedios múltiples. Las secciones de tejido colónico son evaluadas para diversos indicadores de enfermedad y serán las marcaciones relativas.

Evaluación en tres modelos de artritis

[0260] *Ensayo de ratas Lewis en cuanto a artritis inducida por adyuvante.* Sesenta, ratas Lewis hembras de doce semanas de nacidas son encerradas de acuerdo con las instalaciones estándar de los procedimientos operativos. Ellas reciben un régimen estándar de alimento y agua ad libitum. Cada animal es identificado por una tarjeta de jaula indicando el grupo de proyecto y el número de animal. Cada número de rata es marcado con un marcador de tinte indeleble en la cola. Por lo menos de 10

a 21 días antes del estudio ella son anestesiadas y ovariectomizadas por técnicas quirúrgicas asépticas estándar.

[0261] el Adyuvante completo Freund (Sigma Immuno Chemicals, St. Louis, MO) es usado para inducir la artritis, cada ml contiene un mg de tuberculosos de Micobacteria muerta por calor y secada, 0,85 ml de aceite mineral y 0,15 ml de monooleato de manida Lote No. 084H8800.

[0262] Los siguientes son ejemplos de dos procedimientos de ensayo. El procedimiento de ensayo de inhibición: 30 ratas son inyectadas intradérmicamente con 0,1 ml de adyuvante-Completo de Freund en la base de la cola. Los animales son clasificados aleatoriamente en cuatro grupos, cada grupo contiene seis ratas. Cada día, los grupos reciben el vehículo (50% DMS (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/1x salina de fosfato Dulbeco (GibcoBRL, Grand Island, NY)) o el compuesto de ensayo (0,1-10 mg/kg administrado subcutáneamente). Todas las ratas inician el tratamiento en el día 1.

[0263] Procedimiento de ensayo: Se inyectan intradérmicamente treinta ratas con 0.1 mL de Adyuvante de Freund-Completo en la base de la cola. Los animales se aleatorizan para cuatro grupos, cada grupo contiene seis ratas. Cada día los grupos reciben el vehículo (50% de SMNSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/1x Salina fosfato de Dulbecco (GibcoBRL, Grand Island, NY)) ó el compuesto de ensayo (0.1-10 mg/kg, administrado subcutáneamente). Todas las ratas se tratan en el día 8 después de inyección del adyuvante.

251
BA.

[0264] Se desarrolla análisis estadístico utilizando Abacus Concepts Super ANOVA. (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA). Todos los parámetros de interés se someten a análisis de varianza con ensayo post hoc de rango múltiple nuevo de Duncan entre grupos. Los datos se expresan a través de media, más o menos, desviación estándar (DE), y las diferencias se consideran significantes si $p < 0.05$.

[0265] El grado de severidad de la artritis se monitorea diariamente en términos de los siguientes índices de la enfermedad: Eritema de pata trasera, inflamamiento de la pata trasera, debilitamiento de las articulaciones, y movimientos y postura. Un escala de enteros de 0 a 3 se utiliza para cuantificar el nivel de eritema (0= pata normal, 1= eritema suave, 2= eritema moderado, 3= eritema severo) e hinchamiento (0= pata normal, 1= hinchamiento leve, 2= hinchamiento moderado, 3= hinchamiento severo de la pata trasera), La clasificación máxima por día es 12.

[0266] Al final del estudio las ratas se les practica eutanasia con CO₂, se remueven las extremidades traseras en necropsia, y se fijan en 10% de formalina amortiguada, y las articulaciones del tarso se descalcifican y se embeben en parafina. Las secciones histológicas se tiñen con hematoxilín y eosín o safranín O-teñido Fast Green.

[0267] Se codifican los portaobjetos de tal forma que el examinador se ciegue a los grupos de tratamiento. El tejido sinovial de las articulaciones del tarso se evalúan basado en

0 257
25

hiperplasias sinovial, infiltración celular inflamatoria, y formación de queratitis vascular (Poole and Coombs, International Archives of Allergy & Applied Immunology 54: 97-113 (1977)) como se destaca adelante.

Categoría	Grado
1. Células de recubrimiento sinovial.	
a. Sin cambio.	0
b. Células alargadas, ligeramente engrosadas	1
c. Células alargadas, incremento en número, moderadamente gruesas, no se presenta vellosidad.	2
d. Células alargadas, gruesas, se presenta vellosidad.	3
2. Fibroplasia.	
a. Sin cambio.	0
b. Fibroplasia presente bajo células de líneas.	1
c. Áreas pequeñas de tejido areolar remplazadas por tejido fibroso.	2
d. Reemplazo de tejido areolar por tejido fibroso.	3
3. Células inflamatorias.	
a. Ocasionalmente vaso, selección a través de dispersión.	0
b. Células presentes en números pequeños en o justo bajo la capa de células de líneas y/o alrededor de los vasos sanguíneos.	1
c. Pequeña recolección focal de células puede estar presente.	2
d. Grandes números de células presentes en cápsula y	3

250

en o bajo las capas de células de línea. A menudo se ven grandes focos.	
4. Queratitis vascular.	
a. No detectable.	0
b. Detectable.	1

[0268] Adicionalmente, se evalúa el hueso y el cartílago articular utilizando el sistema de graduación histológico de Mankin (Mankin, et al., Journal of Bone & Joint Surgery - American Volume 53: 523-37 (1971)) como se muestra adelante.

Categoría	Grado
1. Estructura	
a. Normal	0
b. Irregularidad de superficie	1
c. Irregularidad de superficie y vascularización	2
d. Fisuras para zona de transición	3
e. Fisuras para zona radial	4
f. Fisuras para zona calcificada	5
g. Desorganización completa	6
2. Células	
a. Normal	0
b. Hiper celularidad difusa	1
c. Clonación	2
d. Hipocelularidad	3
3. Teñido Safranin-O	
a. Normal	0
b. Reducción ligera	1

c. Reducción modesta	2
d. Reducción severa	3
e. No se nota tinte	4
4. Integridad Tidemark	
a. Intacto	0
b. Crusado por vasos sanguíneos	1

Evaluación en el modelo de ratas HLA-B27 de artritis

[0269] Se evalúan compuestos representativos en el procedimiento de ensayo farmacológico estándar para ratas HLA-B27, que simula la artritis en humanos. Lo siguiente describe brevemente el procedimiento utilizado. Se obtienen ratas macho HLA-B27 de Taconic y se suministra acceso no restringido al alimento y agua (dieta PMI Lab 5001). Las ratas se dosifican una vez subcutáneamente por día con el vehículo (50% DMSO/50% 1x de salina amortiguada con fosfato de Dulbecco) ó compuesto de ensayo (0.1 a 19 mg/kg) durante al menos una semana. Se evalúa la histología y las clasificaciones de articulaciones, como se describió anteriormente para el modelo de rata Lewis de artritis inducida por adyuvate.

Evaluación en los modelos de artritis inducidas por colágeno

[0270] Se evalúan compuestos en ratones BALB/c, de 6-8 semanas de edad, en el que la artritis se induce mediante colágeno tipo 2, contra anticuerpos formulados, más lipopolisacárido (LPS). Se administra intravenosamente a los

0 284
258

animales una combinación de 4 mAbs diferentes que totalizan 4 mg/ratón en el día 0, y seguido por 25 µg de LPS intravenoso 72 horas después (día 3). Del día 3, una hora después de la aplicación del LPS, los compuestos ensayados se les da una vez diaria oralmente durante 15 días. Para cada animal, el incremento en volumen de las patas traseras, se mide utilizando pletismómetro con un célula de agua (diámetro 12 mm) en los días 0, 5, 10, 14 y 17. El porcentaje de inhibición de incremento en el volumen se calcula.

Evaluación in vivo de modelos de carcinogénesis.

[0271] La capacidad de los compuestos de ésta invención, para tratar e inhibir varias malignidades o trastornos hiperprolíficos se puede evaluar en procedimientos de ensayo farmacológico estándar que están fácilmente disponibles en la literatura, e incluyen los siguientes dos procedimientos.

[0272] *Cáncer de mama.* Se obtiene ratones (desnudos) nu/nu actínicos ovariectomizados de Charles River Laboratories (Wilmington, MA). Un día antes de la inyección de tumor, se le implantan a los animales glóbulos de liberación en el tiempo que contienen 0.36-1.7 mg 17β- estradiol (60 o 90 días de liberación, Innovative Research of America, Sarasota, FL) o un placebo. La pelletilla se introduce subcutáneamente dentro de la región intraescapular utilizando un trocar de posición de diámetro 10. Posteriormente, se inyectan los ratones subcutáneamente en el tejido mamario con 1×10^7 células MCF-7 ó 1×10^7 células BG-1. Las células se mezclan con un volumen igual de matrigel, una

- 0 255
259.

preparación de matriz de membrana base, para mejorar el establecimiento de tumor. Los compuestos de ensayo se evalúan al dosificar un día después de la implantación de célula de tumor (régimen de inhibición) o después que los tumores han alcanzado cierto tamaño (régimen de tratamiento). Los compuestos se administran intraperitonealmente u oralmente en un vehículo de 1% tween-80 en salina cada día. El tamaño del tumor se evalúa cada tres o siete días.

[0273] *Cáncer de colon.* La capacidad para tratar o inhibir el cáncer de colon, se puede evaluar en el procedimiento de ensayo de Smirnov (Oncology Research 11:255-64 (1999)).

Evaluación de neuroprotección en dos procedimientos de ensayo in vivo.

[0274] *Isquemia global transitoria en Jerbo Mongólico.* El efecto de los compuestos de ensayo en la prevención o tratamiento de lesión cerebral en respuesta a privación de oxígeno/reperfusión se puede medir utilizando el siguiente procedimiento de ensayo.

[0275] *Jerbo Mongólico hembra* (60-80 g; Charles River Laboratories, Kingston, NY) se alojan en las instalaciones de cuidado animal Wyeth-Ayerst, (certificado aLCA) con luz de 12 horas, fotoperiodo de oscuridad de 12 horas y acceso libre al agua y dieta baja en estrógeno caseína (Purina; Richmond, IN). Después de aclimatación (3-5 días), los jerbos se anestesian con isoflurano (2-3% mezcla con O₂), se ovariectomizan (día 0). Al inicio de la mañana siguiente (día 1), se tratan los jerbos

subcutáneamente cada día con vehículo (10% de ETOH/aceite de maíz), 17β -estradiol (1 mg/kg) ó un compuesto experimental (0.1-20 mg/kg). En el día 6, se anestesian los jerbos (n=4-5/grupo) con isoflurano, las arterias carótidas comunes se visualizan por medio de una incisión en la línea media de la nuca, y se ocluyen simultáneamente ambas arterias durante 5 minutos con clips de micro aneurisma no traumático. Después de oclusión, se remueven los clips, para permitir la reperfusión cerebral, y se cierra la incisión en la nuca con ganchos de costura. Todos los animales se sujetan durante la noche antes de cirugía de isquemia global, una etapa que facilita la lesión isquémica consistente. En el día 12, se exponen los jerbos a una dosis letal de CO_2 , se congelan los cerebros en hielo, y se almacenan a -80°C .

[0276] El grado de protección neuronal se evalúa por análisis de hibridización in situ de mRAN de neurogranin. En resumen, 20 μm de secciones crioestáticas coronales se recolectan en portaobjetos cubiertos de gelatina, se secan y almacenan a -80°C . Al tiempo de procesamiento, las cajas de portaobjetos disecados se calientan a temperatura ambiente, los portaobjetos se postfijan en 4% de paraformaldehído, se tratan con anhídrido acético, se delipida, y se deshidrata con cloroformo y etanol. Los portaobjetos procesado en la sección montada se hibridiza luego con 20 μl (6×10^6 DPM portaobjeto) de una ribosonda (control) sentido o antisentido para neurogranin (^{35}S -UTP-NG-241 etiquetado; bases 99-340), en un 50% de mezcla de hibridización de formamida, e incubada durante la noche a 55°C , en una cámara de portaobjeto humidificada sin cubierta. La mañana siguiente, los portaobjetos se recolectan en estantes, se sumergen 2xSSC

0 25.
261

(0.3 M NaCl, 0.03 M de citrato de sodio; pH 7.0)/10 mM DTT, se trata con RNasa A (20 µg/ml) y se lava (2 x 30 min) a 67°C en 0.1x SSC para remover la etiqueta no específica. Después de deshidratación, se oponen los portaobjetos a película de rayos X BioMax (BMR-I; Kodak) durante la noche.

[0277] Se utiliza el nivel de señal se hibridización de neurogranin para evaluar cuantitativamente el grado de pérdida neuronal en la región CA1 después de lesión, y para evaluar la eficacia de los compuestos de 17β-estradiol y experimentales. El mRNA de neurogranin se selecciona para estos estudios debido a que se expresa grandemente en neuronas del hipocampo que incluyen CA1, pero ausente en glía y otros tipos celulares presentes en ésta región del cerebro. Por lo tanto, la medición de la cantidad de mRNA presente, representa neuronas supervivientes. Las mediciones de densidad ópticas relativas, de la señal de hibridización de neurogranin, se obtienen de autoradiogramas de película con un sistema de análisis de imagen, basado en computador (C-Imaging Inc., Pittsburgh, PA). Los resultados de 6 secciones (40 µm aparte), por animal se promedian y se evalúan estadísticamente. Los valores numéricos se evalúan como la media ± SEM. El análisis de una vía de varianza se utiliza para evaluar las diferencias en el nivel de mRNA neurogranin y todas las declaraciones de no diferencia en la sección de resultados, implica que $p > 0.05$.

[0278] *Oclusión media de arteria cerebral en ratones.* La neuroprotección se puede evaluar de acuerdo con los procedimientos de ensayo descritos por Dubal. (ver, Dubal, et

al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98: 1952-1957 (2001), Dubai, et al., Journal of Neuroscience 19: 6385-6393 (1999)).

Procedimiento de ensayo farmacológico estándar de inhibición de ovulación

[0279] El procedimiento de ensayo, se utiliza para determinar si los compuestos de ensayo pueden inhibir o cambiar el tiempo de ovulación. Éste también se puede utilizar para determinar el número de oocitos ovulados[Lundeen, et al., J Steroid Biochem Mol Biol 78: 137-143 (2001)].

Rechazo de Transplante

[0280] Probar la capacidad de los compuestos de ensayo para evitar el rechazo de transplante. Se pueden ensayar compuestos en modelos animales de transplante de corazón (Stetson et al. Circulation 104:676-682 (2001) or transplant atherosclerosis (Deitrich et al. Arterioscler. Thromb. Vase Biol. 20:343-352 (2000), Lou et al., Circulation 94:3355-3361 (1996).

Prevención de Restenosis

[0281] Se utiliza el procedimiento de ensayo, para determinar se los compuestos de ensayo pueden inhibir la proliferación de células de músculo liso vascular, después de lesión de arteria carótida similar a aquella que ocurre después de angioplastia de balón. Los compuestos de ensayo se pueden probar en modelos

0 2%
63.

animales previamente descritos (Karas et al. Circ Res. 89:534-539 (2001), Cerek et al. Atherosclerosis 131:59-66 (1997)).

Tratamiento de infarto del miocardio

[0282] Los compuestos de ensayo se pueden probar en modelos animales de isquemia/reperfusión, para determinar si ellos pueden inhibir la muerte celular que ocurre durante un infarto del miocardio. Los modelos se pueden probar en modelos descritos previamente (Delyani et al. J Mol & Cell Cardiology 28:1001-1008 (1996), Izumi et al. J Clin Invest. 108:203-213 (2001) & Chandrasekar et al. Circulation 103:2296-2302 (2001)).

Tratamiento para miocarditis y falla cardíaca congestiva

[0283] Los compuestos de ensayo se pueden evaluar en modelos de falla cardíaca, para determinar si los compuestos pueden ser una terapia efectiva y mejorar la función cardíaca. Los compuestos se pueden ensayar en animales como se describió previamente (Delyani et al. J Mol & Cell Cardiology 28:1001-1008 (1996), Izumi et al. J Clin Invest. 108:203-213 (2001) & Chandrasekar et al. Circulation 103:2296-2302 (2001)).

Tratamiento para la diabetes

[0284] Los compuestos de ensayo se pueden probar en modelos de diabetes para determinar su efecto en la reversión de la obesidad y la resistencia a la insulina, inducida por dieta. Los

0 28
26A

compuestos se pueden probar en modelos animales, como se describió previamente (Yuan et al. Science 293:1673-1677 (2001)).

Tratamiento para el asma

[0285] *Modelos de inflamación pulmonar.* Se sensibilizan ratones con OVA emulsificado en albúmina en los días 0 y 14 (inyección ip). En los días 28 y 29, se inoculan los ratones con aerosol de OVA durante 20 min (1%-5% OVA) y luego en el día 30 se sacrifican los animales en BAL cosechado y/o tejido de pulmón para análisis de inflamación pulmonar.

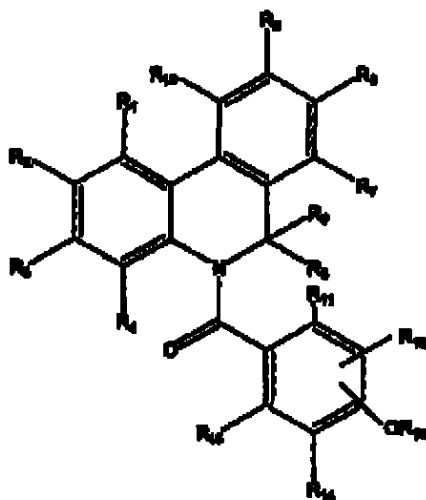
[0286] *Hipersensibilidad de vías aéreas.* Éste modelo es similar a aquel descrito anteriormente, sin embargo los animales se inoculan en 3 días consecutivos con un aerosol de OVA, y se mide la hipersensibilidad de las vías aéreas 48 h después de la última inoculación. El BAL también puede ser tomado en ésta etapa si se requiere.

[0287] Para ver más directamente en los efectos de las células madres, en conjunto con ER, un conteo pasivo de modelo anafiláctico en el que IgE se inyecta en la oreja, y luego 24 horas después DNP-HSA IV se inyecta DNP-HSA IV se puede utilizar. Se mide la reacción de fase tardía y temprana, y el espesor de la oreja. Los tejidos se fijan en K2. Se embeben en resina Epoxi y se cortan en secciones de un μm . Éstas se pueden teñir para más células madre y se cuantifica el grado de desgranulación de células madre.

0 26
26**REIVINDICACIONES**

Lo que se reivindica es:

1. Un compuesto de la Fórmula 1:



Fórmula 1

o una sal farmacéuticamente aceptable o éster de estos
en donde:

R₁, R_{2,3}, y R₄, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior opcionalmente sustituido, halógeno, o arilo opcionalmente sustituido;

R₇, R₈, R₉, y R₁₀, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior opcionalmente sustituido o halógeno;

R₁₁, R₁₂, R₁₄, y R₁₅ son, independientemente, hidrógeno, hidroxí, alquilo inferior opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido o halógeno,

0 282
266

uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno y el otro es alquilo inferior opcionalmente sustituido;

R_{13} es hidrógeno, $-(C=O)R_{16}$, $-S(O)2R_{17}$, $-S(O)2N(R_{18})(R_{19})$, o D-glucuronidato;

R_{16} es alquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;

R_{17} es alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, cicloalquenilo opcionalmente sustituido, o alquinilo opcionalmente sustituido;

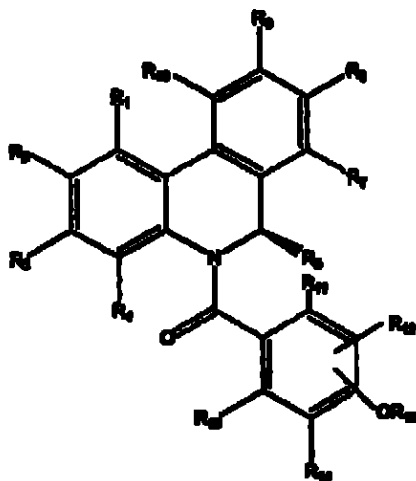
R_{18} y R_{19} son, independientemente, hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, monofluoroalquilo opcionalmente sustituido, perfluoroalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, cicloalquenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo opcionalmente sustituido, hidroxí- (C_2-C_6) alquilo opcionalmente sustituido, alcoxialquilo opcionalmente sustituido, alquiltioalquilo opcionalmente sustituido, carbonilo opcionalmente sustituido, acilo opcionalmente sustituido, alcoxi carbonilo opcionalmente sustituido, $-C(O)NH_2$, alquilaminocarbonilo opcionalmente sustituido,

0 263
267

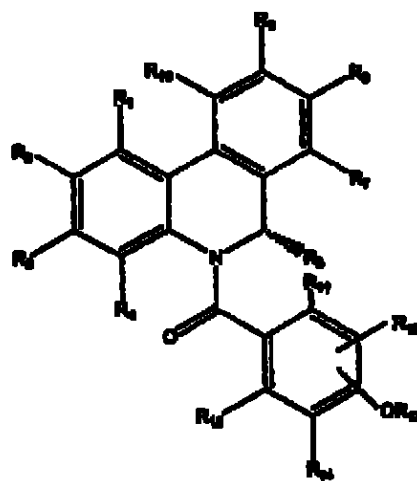
dialquilaminocarbonilo opcionalmente sustituido,
alquilaminoalquilo opcionalmente sustituido, o
dialquilaminoalquilo opcionalmente sustituido;

o R_{18} y R_{19} se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C_4-C_6 saturado, no saturado o parcialmente saturado.

2. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula 2 o Fórmula 3:



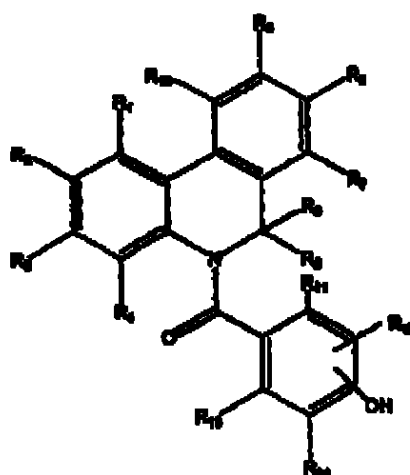
Fórmula 2



Fórmula 3

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

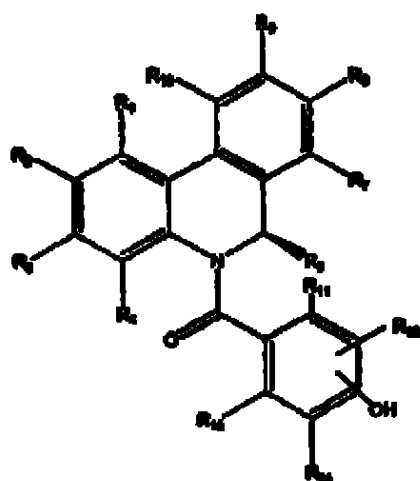
3. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula 4:

0 287
168

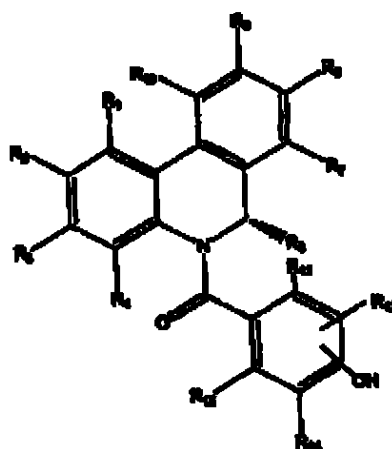
Fórmula 4

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

4. Un compuesto de la reivindicación 3 que tiene la Fórmula



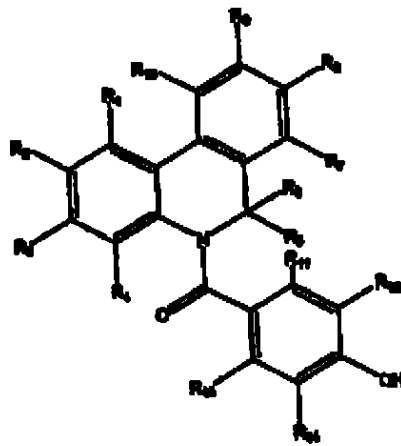
Fórmula 5



Fórmula 6

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

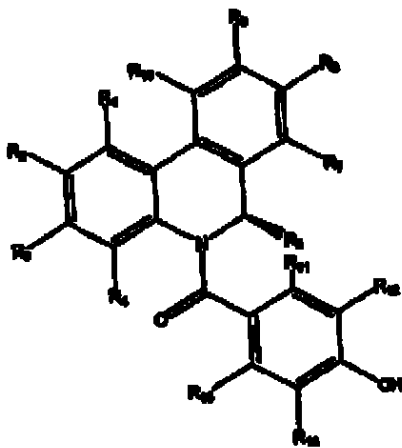
5. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula 7:

0 285
269.

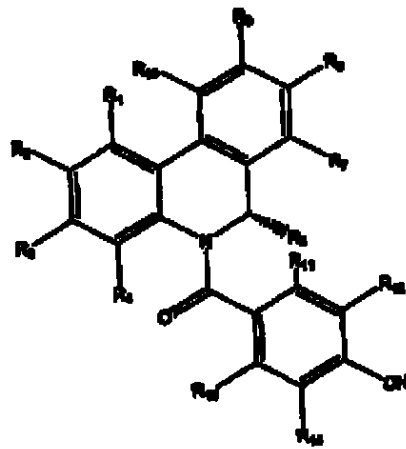
Fórmula 7

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

6. Un compuesto de la reivindicación 5 que tiene la Fórmula 8 o 9:



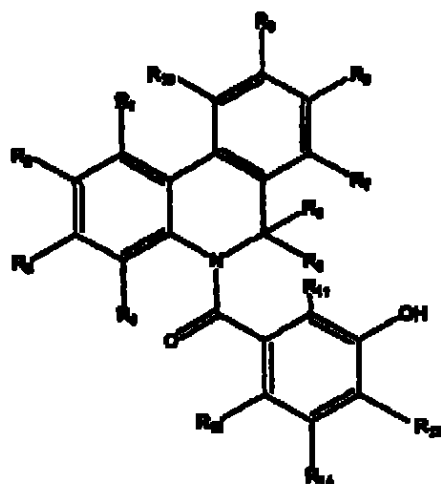
Fórmula 8



Fórmula 9

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

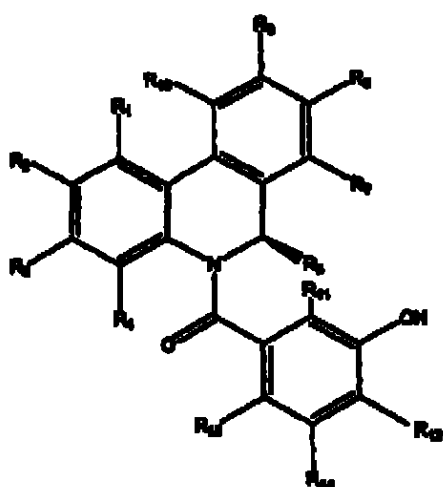
7. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula 10:



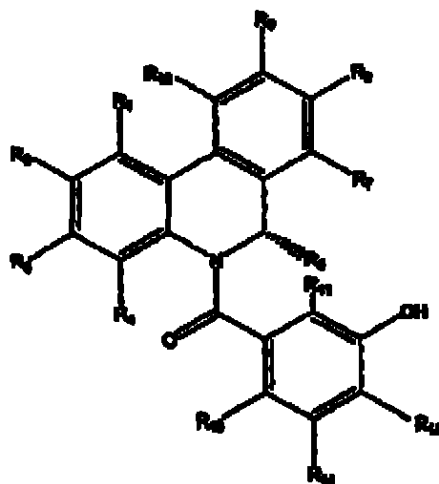
Fórmula 10

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

8. Un compuesto de la reivindicación 7 que tiene la Fórmula 11 o 12:



Fórmula 11



Fórmula 12

o una sal farmacéuticamente aceptable o forma de éster de estos.

9. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde al menos uno de R_1 , $R_{2,3}$, R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} es halógeno.
10. Un compuesto de la reivindicación 9 en donde R_1 , $R_{2,3}$, R_4 , R_7 , R_8 , R_9 y R_{10} son hidrógeno o halógeno.

11. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 9 o reivindicación 10 en donde al menos uno de R_3 o R_8 es halógeno.
12. Un compuesto de la reivindicación 10 en donde R_3 y R_8 son halógeno.
13. Un compuesto de la reivindicación 10 en donde R_3 o R_8 es cloro o flúor o R_3 y R_8 son cloro o flúor.
14. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en donde R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, halógeno, hidroxil, o alcoxi.
15. Un compuesto de la reivindicación 14 en donde R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxil, o metoxil.
16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_7 , R_8 , R_9 , y R_{10} , es halógeno, R_{12} , R_{14} y R_{15} son hidrógeno, cloro, bromo, flúor, hidroxil, o metoxil y R_{13} es hidrógeno.
17. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol; 3-([(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol; 4-([(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol; 3-([(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil)fenol; 3-fluoro-4-([(6R)-8-fluoro-6-

n 258
272

metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 3-fluoro-4-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.

18. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-fluoro-3-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-fluoro-3-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-fluoro-4-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-fluoro-4-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-cloro-5-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.

19. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 2-cloro-5-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-bromo-4-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 2-bromo-4-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-bromo-3-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-bromo-3-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.

20. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-{[(6R)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}-2-metoxifenol; 4-{[(6S)-8-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}-2-metoxifenol; 4-{[(6S)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-

- il]carbonil}fenol; 4-{[(6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 3-{[(6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.
21. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-{[(6R)-6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; 4-[(6-etil-8-fluorofenantridin-5(6H)-il)carbonil]-3-fluorofenol; 3-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol; 3-[(6R)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 3-[(6S)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil} fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.
22. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-[(3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol; 4-{[(6R)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-[(6S)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-[3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; 4-[(6R)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.
23. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-[(6S)-3-cloro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; 3-[(3-fluoro-6-metilofenantridin-5(6H)-il)carbonil]fenol; 3-[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol;

0 270
274

- 3 -{[(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-{(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.
24. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-{[(6R)-3-fluoro-6-metilofenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-{[(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol 4-{(3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}benceno-1,3-diol; 4-{[(6R)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; 4-{[(6S)-3-fluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}benceno-1,3-diol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.
25. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-{(3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}fenol; 4-{[(6R)-3,8-Difluoro-6-metilphenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-{[(6S)-3,8-Difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.
26. Un compuesto de la reivindicación 1 que es 4-{(3,8-difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il)carbonil}fenol; 4-{[(6R)-3,8-Difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-{[(6S)-3,8-Difluoro-6-metilfenantridin-5(6H)-il]carbonil}fenol; 4-{[(6R)-3,8-difluoro-6-metilofenantiridin-5((6H)-il)carbonil}-2-fluorofenol; o una

0 271
275

sal farmacéuticamente aceptable, éster o forma de solvato de estos.

27. Un método para modular la expresión de citoquina en un sujeto que comprende suministrar al sujeto una cantidad efectiva farmacéuticamente de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
28. El método de la reivindicación 27 en donde dicha citoquina es IL-6.
29. El método de la reivindicación 27 en donde dicho sujeto tiene enfermedad inflamatoria crónica.
30. El método de la reivindicación 29 en donde dicha enfermedad inflamatoria crónica es aterosclerosis, infarto del miocardio, falla cardíaca congestiva, enfermedad inflamatoria del intestino y artritis.
31. Un método de tratamiento de enfermedad inflamatoria crónica comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
32. Un método de tratamiento de artritis reumatoide, espondiloartropatías, osteoartritis, artritis psoriásica, o artritis juvenil comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de

- un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
33. Un método de tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, colitis indeterminada comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
34. Un método de tratamiento de soriasis comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
35. Un método de tratamiento de asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
36. Un método de tratamiento de apoplejía, isquemia o lesión por reperfusión comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
37. Un método para disminuir el colesterol, los triglicéridos, Lp(a), y los niveles LDL; inhibiendo o tratando la

0 213
278

hipercolesterolina, hiperlipidemia, enfermedad cardiovascular, aterosclerosis, síndrome coronario agudo, enfermedad vascular periférica, restenosis, o espasmos vasculares comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.

38. Un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, la declinación cognitiva, la demencia senil comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
39. Un método de tratamiento de diabetes tipo II comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
40. Un método de tratamiento de sepsis en un mamífero comprende suministrar a un sujeto en necesidad de este una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
41. Un kit para modular expresión de citoquina en un sujeto, el kit comprende un recipiente, una composición farmacéutica contenida en este que comprende un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.

42. Un kit para tratar una enfermedad inflamatoria crónica en un sujeto, el kit comprende un recipiente, una composición farmacéutica contenida en este que comprende un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
43. Una composición que comprende un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 y un portador farmacéuticamente aceptable.
44. Un método que comprende poner en contacto un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 con una célula.
45. El método como se reivindica en la reivindicación 44 en donde la célula se caracteriza por una sobreexpresión de citoquina.
46. El método como se reivindica en la reivindicación 45 en donde dicha citoquina es IL-6.
47. El método como se reivindica en la reivindicación 44 adicionalmente comprende determinar el nivel de expresión de dicha citoquina.
48. El método como se reivindica en la reivindicación 47 en donde dicha etapa determinante es hecha antes de la etapa de contacto.

49. El método como se reivindica en la reivindicación 47 en donde dicha etapa determinante es hecha después de dicha etapa de contacto.
50. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 para uso como un medicamento.
51. El uso de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 en la preparación de un medicamento para la modulación de expresión de citoquina en un sujeto.
52. El uso como se reivindica en la reivindicación 51 en donde dicha citoquina es IL-6.
53. El uso como se reivindica en la reivindicación 51 para el tratamiento de enfermedad inflamatoria crónica.
54. El uso de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad inflamatoria crónica.
55. El uso de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide, espondiloartropatías, osteoartritis, artritis psoriásica, o artritis juvenil,

0 276
280

para el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino,
enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, colitis
indeterminada,

para el tratamiento de soriasis,

para el tratamiento de asma o enfermedad pulmonar obstructiva
crónica,

para el tratamiento de apoplejía, isquemia o lesión por
reperfusión,

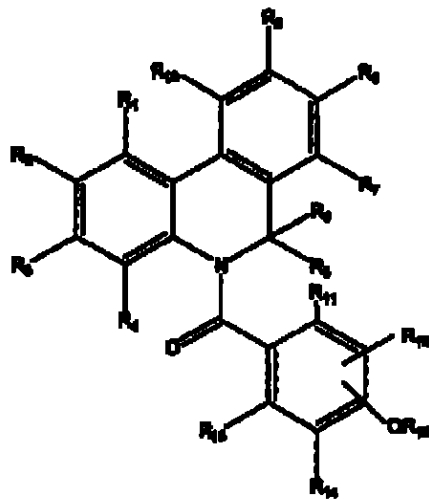
para disminuir el colesterol, los triglicéridos, Lp(a), y los
niveles LDL; inhibiendo o tratando la hipercolesterolina,
hiperlipidemia, enfermedad cardiovascular, aterosclerosis,
síndrome coronario agudo, enfermedad vascular periférica,
restenosis, o espasmos vasculares

para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, la declinación
cognitiva, la demencia senil,

para el tratamiento de diabetes tipo II, o para el tratamiento de
sepsis en un mamífero.

RESUMEN

La presente invención suministra compuestos de fenantridina carbonilo y composiciones, particularmente aquellas que encuentran uso como ligandos para el receptor de estrógeno. Compuestos representativos de la invención incluyen aquellos de la fórmula 1:



(1)

PATENT COOPERATION TREATY

RECEIVED

JAN 28 2006

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

Woodcock Washburn

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

To:

WOODCOCK WASHBURN LLP
Attn: Lucci, Joseph
One Liberty Place - 46th Floor
Philadelphia, Pennsylvania 19103
UNITED STATES OF AMERICA

RECEIVED

FEB 15 2006

SEATTLE
WWMN

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year)

25/01/2006

Applicant's or agent's file reference

WYMC-2151

RECEIVED

JAN 30 2006

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/US2005/031053

DOCKET DEPT
WWMNInternational filing date
(day/month/year)

30/08/2005

Applicant

WYETH

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

Filing of amendments and statement under Article 18:

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

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

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

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

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

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

4. Reminders

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

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

Within 18 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 18 months.

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

Name and mailing address of the International Searching Authority


 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Federic B nomelli

Form PCT/ISA/220 (January 2004)

COPY SENT TO CLIENT

(See notes on accompanying sheet)

ON 2-7-06

0 228 283

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

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

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

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

What parts of the International application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

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

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

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the International search report or 18 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for International publication (Rule 48.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 48.2).

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

How?

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

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

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

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

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

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

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

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

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

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

"Statement under article 19(1)" (Rule 48.4)

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

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

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

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

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

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

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

If, at the time of filing any amendments under Article 18, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the same time of filing the amendments with the International Bureau, also file a copy of such amendments with the International Preliminary Examining Authority (see Rule 62.2(a), first sentence).

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

The applicant's attention is drawn to the fact that, where upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 18 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference WYNC-2151	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2005/031053	International filing date (day/month/year) 30/08/2005	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 02/09/2004
Applicant WYETH		

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

This International Search Report consists of a total of 5 sheets.

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

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

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

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box II).3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box III).

4. With regard to the title,

☐ the text is approved as submitted by the applicant.

☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

PHENANTHRIDINE CARBONYL PHENOLS AS CYTOKINE MODULATORS

5. With regard to the abstract,

☐ the text is approved as submitted by the applicant.

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

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____

☐ as suggested by the applicant.

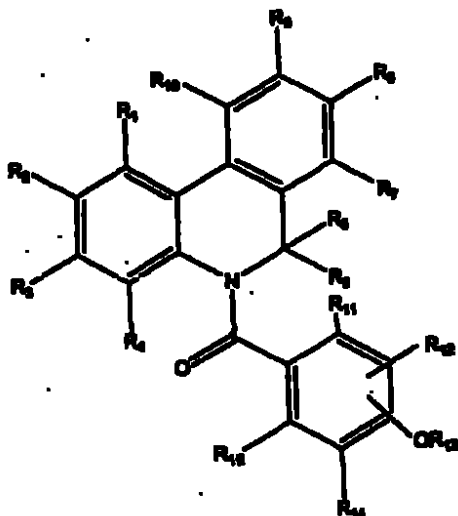
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

Box No. IV Text of the abstract (Continuation of item 5 of the first sheet)

The present invention provides phenanthridine carbonyl compounds and compositions, particularly those that find use as ligands for the estrogen receptor. Representative compounds of the invention include those of formula 1.



Formula 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US2005/031053

283

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D221/12 A61K31/473 A61P29/00 A61P19/02 A61P3/06
A61P3/10 A61P9/10 A61P17/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

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

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/050631 A (WYETH; MOLINARI, ALBERT, JOHN; ASHWELL, MARK, ANTHONY; RIDGWAY, BRIAN,) 17 June 2004 (2004-06-17) the whole document	1-55
A	WO 2004/031159 A (WYETH CORP 'US!; STEFFAN ROBERT JOHN 'US!; MATELAN EDWARD MARTIN 'US!;) 15 Apr 11 2004 (2004-04-15) claims 1,13-22	1-55
A	WO 03/050095 A (WYETH) 19 June 2003 (2003-06-19) claim 1	1-55
A	WO 02/05616 A (BYK GULDEN LOMBERG CHEMISCHE FABRIK GMBH; GUTTERER, BEATE) 24 January 2002 (2002-01-24) page 23; claim 1	1-55

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 January 2006

Date of mailing of the international search report

25/01/2006

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentplan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schuemacher, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2005/031053U-284
288**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 27-40 and claims 44-49 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 8.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US2005/031053

283

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004050631	A	17-06-2004	AU 2003298819 A1	23-06-2004
			BR 0316196 A	27-09-2005
			CA 2508329 A1	17-06-2004
			EP 1567502 A1	31-08-2005
			US 2004167155 A1	26-08-2004
WO 2004031159	A	15-04-2004	AU 2003276940 A1	23-04-2004
			BR 0314475 A	09-08-2005
			CA 2499736 A1	15-04-2004
			CN 1692102 A	02-11-2005
			EP 1542976 A1	22-06-2005
WO 03050095	A	19-06-2003	AU 2002353014 A1	23-06-2003
			BR 0214767 A	09-11-2004
			CA 2467517 A1	19-06-2003
			CN 1646504 A	27-07-2005
			EP 1451165 A1	01-09-2004
			HU 0500010 A2	28-04-2005
			JP 2005520794 T	14-07-2005
WO 0205616	A	24-01-2002	AU 8196501 A	30-01-2002

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

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

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

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

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2005/031053

International filing date (day/month/year)
30.08.2005

Priority date (day/month/year)
02.09.2004

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
C07D221/12, A61K31/473, A61P29/00, A61P19/02, A61P3/06, A61P3/10, A61P9/10, A61P17/06

Applicant
WYETH

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

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

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 68.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

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

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

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

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80288 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 apmu d
Fax: +49 89 2399 - 4485

Authorized Officer

Schuemacher, A

Telephone No. +49 89 2399-7818



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

0 287 291
International application No.
PCT/US2005/031053

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of the International application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
 - ☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of International search (under Rules 12.3 and 23.1(b)).
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the International application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ In written format
 - ☐ In computer readable form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the International application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in computer readable form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2005/031053

292
11 288

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, Inventive step and Industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application,
☒ claims Nos. 27-40 and 44-49

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 27-40 and 44-49 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

see separate sheet

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
- ☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.
- ☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:
- the written form ☐ has not been furnished
- ☐ does not comply with the standard
- the computer readable form ☐ has not been furnished
- ☐ does not comply with the standard
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See separate sheet for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2005/031053

1) 289
793

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-55
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-55
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-26, 41-43, 50-55
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item III

N n-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claims 27-40 and claims 44-49 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

Re Item V

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

Reference is made to the following documents:

D1: WO 2004/050631 A (WYETH) 17 June 2004

D2: WO 2004/031159 A (WYETH CORP [US]) 15 April 2004

D3: WO 03/050095 A (WYETH) 19 June 2003

D4: WO 02/05616 A (BYK GULDEN LOMBERG CHEMISCHE FABRIK GMBH) 24 January 2002

1. Novelty, Article 33(2) PCT:

With regard to the prior art disclosed in the documents cited above the subject-matter of the present application, i.e. the [(6-alkyl-phenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol compounds of claim 1, appears to fulfil the requirements of novelty, cf. Article 33(2) PCT:

The compounds of D1 differ from those presently claimed on account of the sulfonyl linker instead of the carbonyl linker between the phenanthridine and the phenol ring.

The documents D2 and D4 disclose 4-(indazol-3-yl)phenols or 4-(1,3-benzoxazol-2-yl)phenols as estrogen receptor ligands.

D4 describes 6-phenyl-1,2,3,4,4a,10b-hexahydrophenanthridine compounds.

2. Inventive step, Article 33(3) PCT:

The present application is related to [(6-alkyl-phenanthridin-5(6H)-yl)carbonyl]phenol

compounds as estrogen receptor ligands and cytokine expression modulators, especially interleukin IL-6.

D1 is considered to be the closest prior art document: this document describes [(6-alkyl-phenanthridin-5(6H)-yl)sulfonyl]phenol compounds as estrogen receptor ligands.

The compounds of D1 differ from those presently claimed only on account on the sulfonyl linker between the phenol and the phenanthridine ring.

Hence, the claimed compounds are considered as obvious derivatives/ alternatives of the estrogen receptor ligands disclosed in D1.

The technical problem underlying the present application has therefore to be seen in the provision of compounds which present an unexpected effect with regard to the compounds of D1.

Since the present application does not contain any evidence for such surprising effect when compared to the structurally closest compounds of D1, the subject-matter of the present application cannot be considered to satisfy the requirements of Article 33(3) PCT.

3. Industrial applicability:

For the assessment of the present claims 27-40 and 44-49 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

RECEIVED

DEC 06 2005

DOCKET DEPT
WV/KMN

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

LUCCI, Joseph
Woodcock Washburn LLP
One Liberty Place - 46th Floor
Philadelphia, PA 19103
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

RECEIVED

DEC 06 2005

Woodcock Washburn

Nesher

Date of mailing (day/month/year)

21 November 2005 (21.11.2005)

Applicant's or agent's file reference

WYNC-2151 (AM101547)

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US2005/031053

International filing date (day/month/year)

30 August 2005 (30.08.2005)

International publication date (day/month/year)

Priority date (day/month/year)

02 September 2004 (02.09.2004)

Applicant

WYETH et al

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date

Priority application No.

Country or regional Office
or PCT receiving Office

Date of receipt
of priority document

02 September 2004 (02.09.2004)

60/806,784

US

31 October 2005 (31.10.2005)

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

Authorized officer

Althea NEVERS (Fax 338 7010)

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Facsimile No. (41-22) 338.70.10

Telephone No. +41 22 338 8392

Form PCT/IB/304 (January 2004)

COPY SENT TO CLIENT

UN 12-21-05

CNOPM50H

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No.

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference
(if desired) (12 characters maximum) WYNC-2151

Box No. I TITLE OF INVENTION

PHENANTHRIDINE CARBONYL PHENOLS

Box No. II APPLICANT

☐ This person is also inventor

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

WYETH
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940-0874
United States of America

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

US

State (that is, country) of residence:

US

This person is applicant
for the purposes of:☐ all designated
States☒ all designated States except
the United States of America☐ the United States
of America only☐ the States indicated in
the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

STEFFAN, Robert John
263 Wheatsheaf Lane
Langhorne, Pennsylvania 19047
United States of America

This person is:

☐ applicant only☒ applicant and inventor☐ inventor only (If this check-box is
marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

US

State (that is, country) of residence:

US

This person is applicant
for the purposes of:☐ all designated
States☐ all designated States except
the United States of America☒ the United States
of America only☐ the States indicated in
the Supplemental Box☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent☐ common
representative

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

LUCCI, Joseph; ABERMAN, Leslie E.
WOODCOCK WASHBURN LLP
One Liberty Place - 46th Floor
Philadelphia, Pennsylvania 19103
United States of America

Telephone No.

215-568-3100

Facsimile No.

215-568-3439

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

33,307; 54,836

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

11 235
298

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
<i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.</i>	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> MOORE, William Jay 108 Fox Run Drive Collegeville, Pennsylvania 19426 United States of America	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: US	State (that is, country) of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> TRYBULSKI, Eugene J. 3432 Manor Road Huntingdon Valley, Pennsylvania 19006 United States of America	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: US	State (that is, country) of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> MOLINARI, Albert John 1053 Overlook Drive Pottstown, Pennsylvania 19464-2979 United States of America	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: US	State (that is, country) of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i>	This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.	

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.

However,

- ☐ DE Germany is not designated for any kind of national protection
- ☐ KR Republic of Korea is not designated for any kind of national protection
- ☐ RU Russian Federation is not designated for any kind of national protection

(The check-boxes above may be used to exclude (irrevocably) the designations concerned in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of an earlier national application from which priority is claimed. See the Notes to Box No. V as to the consequences of such national law provisions in these and certain other States.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 02 September 2004 (02.09.04)	60/606,784	US		
item (2)				
item (3)				

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office) identified above as:

☒ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box

* Where the earlier application is an ARIPO application, indicate at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property or one Member of the World Trade Organization for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)):

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) (if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA / .EP.....

Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Date (day/month/year) Number Country (or regional Office)

Box No. VIII DECLARATIONS

The following declarations are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) (mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration):

Number of
declarations

- | | | |
|---|--|---|
| ☐ Box No. VIII (i) | Declaration as to the identity of the inventor | : |
| ☐ Box No. VIII (ii) | Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent | : |
| ☐ Box No. VIII (iii) | Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application | : |
| ☐ Box No. VIII (iv) | Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America) | : |
| ☐ Box No. VIII (v) | Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty | : |

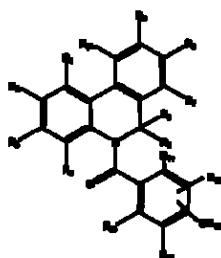
Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING																																			
This international application contains: (a) In paper form, the following number of sheets: request (including declaration sheets) : 4 description (excluding sequence listing and/or tables related thereto) : 94 claims : 13 abstract : : drawings : 1 Sub-total number of sheets : 112 sequence listing : : tables related thereto : : <i>(for both, actual number of sheets if filed in paper form, whether or not also filed in computer readable form; see (c) below)</i> Total number of sheets : 112 (b) ☐ only in computer readable form (Section 801(a)(i)) (i) ☐ sequence listing (ii) ☐ tables related thereto (c) ☐ also in computer readable form (Section 801(a)(ii)) (i) ☐ sequence listing (ii) ☐ tables related thereto Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the ☐ sequence listing: ☐ tables related thereto: <i>(additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)</i>	This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item): <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 80%;">1. ☒ fee calculation sheet</td> <td style="width: 20%; text-align: right;">1</td> </tr> <tr> <td>2. ☐ original separate power of attorney</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3. ☐ original general power of attorney</td> <td></td> </tr> <tr> <td>4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:</td> <td></td> </tr> <tr> <td>5. ☐ statement explaining lack of signature</td> <td></td> </tr> <tr> <td>6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):</td> <td></td> </tr> <tr> <td>7. ☐ translation of international application into (language):</td> <td></td> </tr> <tr> <td>8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material</td> <td></td> </tr> <tr> <td>9. ☐ sequence listing in computer readable form (indicate type and number of carriers)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application) :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>10. ☐ tables in computer readable form related to sequence listing (indicate type and number of carriers)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application) :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(ii) ☐ (only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater) :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>11. ☒ other (specify): Transmittal, fee calc, sh. return postcard, check</td> <td style="text-align: right;">4</td> </tr> </table>	1. ☒ fee calculation sheet	1	2. ☐ original separate power of attorney		3. ☐ original general power of attorney		4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:		5. ☐ statement explaining lack of signature		6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):		7. ☐ translation of international application into (language):		8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material		9. ☐ sequence listing in computer readable form (indicate type and number of carriers)		(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application) :		(ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter :		(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column :		10. ☐ tables in computer readable form related to sequence listing (indicate type and number of carriers)		(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application) :		(ii) ☐ (only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater) :		(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column :		11. ☒ other (specify): Transmittal, fee calc, sh. return postcard, check	4
1. ☒ fee calculation sheet	1																																		
2. ☐ original separate power of attorney																																			
3. ☐ original general power of attorney																																			
4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:																																			
5. ☐ statement explaining lack of signature																																			
6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):																																			
7. ☐ translation of international application into (language):																																			
8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material																																			
9. ☐ sequence listing in computer readable form (indicate type and number of carriers)																																			
(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application) :																																			
(ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter :																																			
(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column :																																			
10. ☐ tables in computer readable form related to sequence listing (indicate type and number of carriers)																																			
(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application) :																																			
(ii) ☐ (only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater) :																																			
(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column :																																			
11. ☒ other (specify): Transmittal, fee calc, sh. return postcard, check	4																																		
Figure of the drawings which should accompany the abstract:	Language of filing of the international application: English																																		
Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE <i>Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).</i> Leslie E. Altman, Attorney for Applicant																																			

For receiving Office use only	
1. Date of actual receipt of the purported international application:	2. Drawings: ☐ received: ☐ not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

For International Bureau use only
Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

PC Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT		00297
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 31/473, A61P 17/06, A61P 19/02, A61P 29/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 9/10, C07D 221/12		
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) WYETH		
(30) Prioridad	(31) No. 60/606,784	32) Fecha 02/08/04	(33) País US	(72) Inventor(es) STEFFAN, Robert John MOORE, William Jay
				(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 02/04/07			(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT			Fecha: 16/03/06
	Fecha de presentación de la solicitud: 30/08/05			N° publicación: WO 2006/028875
	No. de solicitud PCT/US2005/031053			
(54) Título: FENOLES DE CARBONILO FENANTRIDINA COMO MODULADORES DE CITOQUINA				

Reivindicación(es):
1. Un compuesto de la Fórmula 1:



Fórmula 1

o una sal farmacéuticamente aceptable o éster de estos en donde:

R1, R2,3, y R4, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior opcionalmente sustituido, halógeno, o anillo opcionalmente sustituido;

R7, R8, R9, y R10, son, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior opcionalmente sustituido o halógeno;

R11, R12, R14, y R15 son, independientemente, hidrógeno, hidroxí, alquilo inferior opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido o halógeno,

uno de R5 y R6 es independientemente hidrógeno y el otro es alquilo inferior opcionalmente sustituido;

R13 es hidrógeno, -(C=O)R16, -S(O)2R17, -S(O)2N(R18)(R19), o D-glucuronidato;

R16 es alquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o anillo opcionalmente sustituido;

R17 es alquilo opcionalmente sustituido, anillo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, cicloalquenilo opcionalmente sustituido, o alquilnilo opcionalmente sustituido;

R18 y R19 son, independientemente, hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquilnilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, monofluoroalquilo opcionalmente sustituido, perfluoroalquilo opcionalmente sustituido, anillo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, cicloalquenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo opcionalmente sustituido, hidroxí-(C2-C6)alquilo opcionalmente sustituido, alcoxdalquilo opcionalmente sustituido, alquiltioalquilo opcionalmente sustituido, -carbonilo opcionalmente sustituido, acilo opcionalmente sustituido, alcoxi carbonilo opcionalmente sustituido, -C(O)NH2, alquilaminocarbonilo opcionalmente sustituido, dialquilaminocarbonilo opcionalmente sustituido, alquilaminoalquilo opcionalmente sustituido, o dialquilaminoalquilo opcionalmente sustituido;

o R18 y R19 se toman juntos con el átomo de nitrógeno al que ellos se unen para formar un anillo de carbono C4-C6 saturado, no saturado o parcialmente saturado.

302

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
CORREA ORDOÑEZ ALVARO
Apoderado(a) y/o Representante de
WYETH

REFERENCIA	Radicación No.	07 21211
	Solicitud internacional	PCT/US2005/031053
	Fecha inicio fase nacional	02/04/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	07932

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

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, deben legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil.

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


CLARA C. DE JAIMES
Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 6 JUL 2007
adpall

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 07-021211- -00000-0000
Fax: 2007-03-02 18:05:20 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEIMI
Eve: 378 FASENACIONALI
Art 411 PRESENTACION Folio: 288



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Claudia M Neva
Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia