



CSA825089

Organización CSA Ltda



QF
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

08-79186

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: DERIVADOS DEL ACIDO BENZO (F) ISOINDOL-2-ILFENIL
ACÉTICO COMO AGONISTAS DE EP4

SOLICITANTE: GLAXO GROUP LIMITED

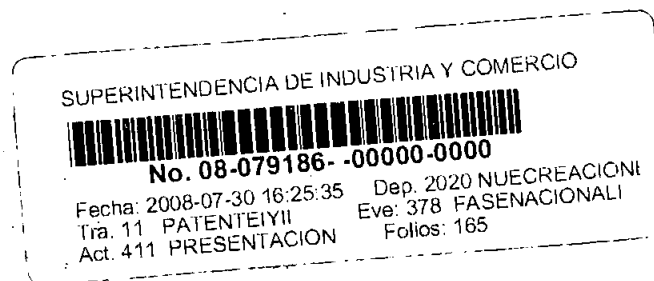
DIRECCIÓN: Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford,
Middlesex UB6 ONN Inglaterra

AGK 34/41

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 30 de Julio de 2008

-E-



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 60,784
FECHA : JULIO 29 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
DLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	81230225	28/07/2008	2,505,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE
GLAXO GROUP LIMITED

PODER DE REPRESENTACION

Bilingüe inglés- español otorgado en Brentford, Middlesex, Inglaterra el 13 de agosto de 2003 y firmado por Peter John Giddings, Apoderado y Funcionario autorizado.

Certificado de Notario De Pinna en español firmado por James Kerr Milligan

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público
2. ha sido firmado por James Kerr Milligan
3. Quien ejerce funciones de Notario público
4. Lleva el sello del Notario público

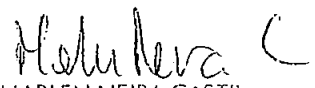
CERTIFICADO

5. En Londres
6. El 14 agosto 2003
7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
8. No. G229474
9. Gran Sello de la Oficina de Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
10. Firma legible de J. Garbrah- Por el Secretario de Estado

Si el documento se usa en un país que no pertenece a la Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961 debe pasar por la sección consular de la Misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 21 agosto-03.

Marlen Neira C


MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 O

Yo, el infrascrito **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

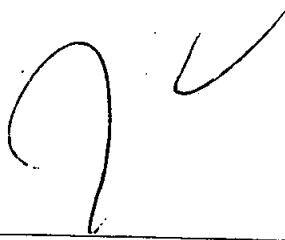
CERTIFICO:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada **"GLAXO GROUP LIMITED"**, Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, e inscrita en la Oficina de Registro de Sociedades bajo el número **305979**, con domicilio social en Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN, Inglaterra;

QUE el citado Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS** está debidamente suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase en nombre y representación de dicha Sociedad en virtud de un Poder otorgado por la referida Sociedad fechado 3 de julio de 2002.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy vece de agosto del año dos mil tres.


JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



7

APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by **James Kerr Milligan**
a été signé par

3. Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de

4. Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

5. at London/à Londres
6. the/le **14 August 2003**

7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G229474**

9. Stamp:
timbre: 10. Signature: **J. Garbrah**



[Handwritten signature]

For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER – TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, GB
by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's **Patents, Utility Models and Industrial Designs** in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

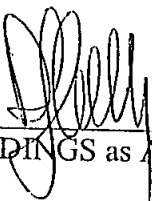
El suscrito,

Glaxo Group Limited

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de **Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales** de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:


Peter John GIDDINGS as Attorney and Authorised Official

Date/Fecha: 13 August 2003

City/Country/Ciudad,País: Brentford, Middlesex, England

9

APOSTILLA

(CONVENCION DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. PAIS: REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE
2. ESTE DOCUMENTO PÚBLICO HA SIDO FIRMADO POR: JAMES KERR
MILLIGAN
3. EN CALIDAD DE: NOTARIO PÚBLICO
4. CERTIFICADO CON EL SELLO DE: QUE LO VERIFICA COMO NOTARIO
PUBLICO.

CERTIFICADO

5. EN LONDRES
6. EL 19 DE ABRIL DE 2007
7. POR: PRINCIPAL SECRETARIO DE ESTADO DE SU MAJESTAD PARA
ASUNTOS COMUNITARIOS Y EXTRANJEROS.
8. No. H359691
9. SELLO: OFICINA COMUNITARIA Y DE EXTRANJERIA, LONDRES
10. FIRMA: (ILEGIBLE)

A. Cox

Por el Secretario de Estado

CESION

10

Andrew BILLINGTON
Nicholas Maughan CLAYTON
Gerard Martin Paul GIBLIN
Mark Patrick HEALY

Por medio de la presente cedemos a Glaxo Group Limited
Una compañía organizada bajo las leyes del Reino Unido
Domiciliada en
Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6
ONN, Reino Unido
(de ahora en adelante el CESIONARIO), todos mis (nuestros) derechos,
título e interés sobre mi (nuestra) invención como tal se describe en:
COMPUESTOS NOVEDOSOS

En lo que concierne a la república de Colombia

Lugar y fecha: Harlow Reino Unido 3 de Abril de 2007

Firma ilegible

Gerard Martin Paul GIBLIN

Lugar y fecha: Harlow Reino Unido 3 de Abril de 2007

Firma ilegible

Mark Patrick HEALY

Lugar y fecha: Harlow Reino Unido 3 de Abril de 2007

Firma ilegible

Andrew BILLINGTON

Lugar y fecha: Harlow Reino Unido 3 de Abril de 2007

Firma ilegible

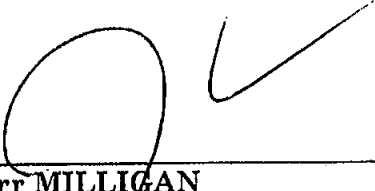
Nicholas Maughan CLAYTON

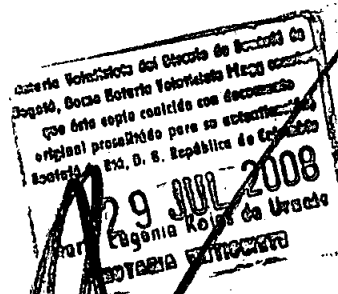
Yo, el infrascrito, **James Kerr MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

CERTIFICO:

QUE las páginas anexas forman en conjunto un documento único de Cesión que fue firmado por Don **Andrew BILLINTON**, titular de pasaporte británico número **800177284** expedido por la Agencia de Pasaportes del Reino Unido el día 5 de junio de 2006, Don **Nicholas Maughan CLAYTON**, titular del carnet de conducir británico número **CLAYT 510127 NM9PE 25** expedido el día 17 de marzo de 2005, Don **Mark Patrick HEALY**, titular de pasaporte británico número **301840547** expedido por la Agencia de Pasaportes del Reino Unido el día 14 de agosto de 2002, y Don **Gerard Martin Paul GIBLIN**, cuya identidad me consta.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario, expido la presente que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy diecinueve de abril del año dos mil siete.


James Kerr MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



TON/
ian CLAYTON
n Paul GIBLIN
HEALY
of this document
roup Limited
pany organized
dom
omiciled in
Glaxo Wellco
Greenford
Kingdom
(here
my
(c

APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by James Kerr Milligan
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté

5. at London/à Londres
6. the/le 19 April 2007
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No

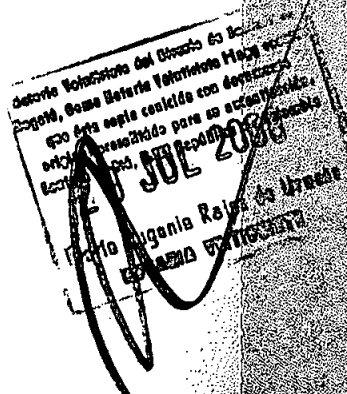
H359691

9. Stamp:
timbre:

10. Signature: A. Cox

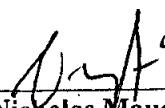


A



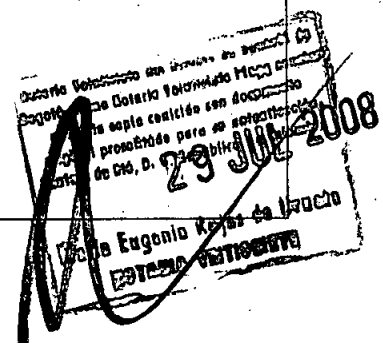
For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

ASSIGNMENT	CESION
Andrew BILLINTON Nicholas Maughan CLAYTON Gerard Martin Paul GIBLIN Mark Patrick HEALY By means of this document assign to Glaxo Group Limited my company organized under the laws of United Kingdom Domiciled in Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, United Kingdom (hereinafter referred to as the ASSIGNEE). All my (our) rights, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful improvement entitled and as fully set forth and described in: NOVEL COMPOUNDS So far as the Republic of Colombia is concerned. Place and date: <i>Harlow, UK</i> <i>3rd APRIL 2007</i>  Andrew BILLINTON Place and date: <i>Harlow UK</i> <i>3rd April 2007</i>  Nicholas Maughan CLAYTON	por medio de la present cedo (cedemos) a una _____ organizada baja las leyes de domiciliada en (de ahora en adelante el CESIONARIO), todos mis (nuestros) derechos, titulo e intercs sobre mi (nuestra) invencion tal como describe en: En lo que concierne a la Republica de Colombia. Place and date: Gerard Martin Paul GIBLIN Place and date: Mark Patrick HEALY

Notario del Estado de Buenos Aires
 Como Notario Victorio Meca
 Este es el original de la escritura
 que se presenta para su autenticación
 en la Oficina de Registro de la Provincia
 de Buenos Aires, el 28 de Julio de 2008
 28 JUL 2008
 Notario Victorio Meca

ASSIGNMENT	CESION
Andrew BILLINTON Nicholas Maughan CLAYTON Gerard Martin Paul GIBLIN Mark Patrick HEALY By means of this document assign to Glaxo Group Limited A company organized under the laws of United Kingdom Domiciled in Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, United Kingdom (hereinafter referred to as the ASSIGNEE). All my (our) rights, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful improvement entitled and as fully set forth and described in: NOVEL COMPOUNDS So far as the Republic of Colombia is concerned. Place and date: <u>Andrew BILLINTON</u> Place and date: <u>Nicholas Maughan CLAYTON</u>	por medio de la present cedo (cedemos) a una _____ organizada baja las leyes de domiciliada en (de ahora en adelante el CESIONARIO), todos mis (nuestros) derechos, titulo e interes sobre mi (nuestra) invencion tal como describe en: En lo que concierne a la Republica de Colombia. Place and date: <i>Harlow 3rd April 2007</i> <u>Gerard Martin Paul GIBLIN</u> Place and date: <i>Harlow 3rd April 2007</i> <u>Mark Patrick HEALY</u>



Box No. VIII(ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (in general and the specific Notes to Box No. VIII(ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to international application No. PCT/EP2007/050992

GLAXO GROUP LIMITED is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

- (i) transfer of entitlement from inventors **Andrew BILLINTON, Nicholas Maughan CLAYTON, Gerard Martin Paul GIBLIN** and **Mark Patrick HEALY** to GlaxoSmithKline Services Unlimited by way of employment contract
- (ii) an assignment from GlaxoSmithKline Services Unlimited to Glaxo Group Limited dated 30 April 2007

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(ii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (ii)) (March 2001; reprint January 2003)

See Notes to the request form

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
9 August 2007 (09.08.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/088190 A1

(51) International Patent Classification:

C07D 209/56 (2006.01) A61P 19/00 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 13/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)

(74) Agents: KING, Lawrence et al.; GlaxoSmithKline, 980
Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS (GB).

(21) International Application Number:

PCT/EP2007/050992

(22) International Filing Date: 1 February 2007 (01.02.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

0602237.0 3 February 2006 (03.02.2006) GB
0608976.7 5 May 2006 (05.05.2006) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): **GLAXO GROUP LIMITED** [GB/GB]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **BILLINTON, Andrew** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow, Essex CM19 5AW (GB). **CLAYTON, Nicholas, Maughan** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow, Essex CM19 5AW (GB). **GIBLIN, Gerard, Martin, Paul** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow, Essex CM19 5AW (GB). **HEALY, Mark Patrick** [GB/GB]; GlaxoSmithKline, New Frontiers Science Park South, Third Avenue, Harlow, Essex CM19 5AW (GB).

(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, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, 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).

Declarations under Rule 4.17:

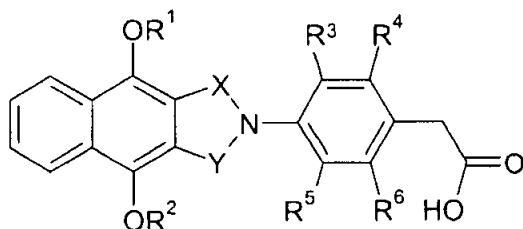
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report

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

(54) Title: BENZO (F) ISOINDOL-2-YL-PHENYL ACETIC ACID DERIVATIVES AS EP4 RECEPTOR AGONISTS



(I)

(57) Abstract: A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, wherein, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , X and Y are as defined in the specification; a process for preparing such compounds; a pharmaceutical composition comprising such compounds; and the use of such compounds in medicine.

BENZO(F) ISOINDOL-2-YLPHENYL ACETIC ACID DERIVATIVES AS EP₄ RECEPTOR AGONISTS

This invention relates to naphthalene derivatives, to processes for their
5 preparation, to pharmaceutical compositions containing them and to their use in
medicine.

The compounds of the present invention are EP₄ receptor agonists.

10 A number of review articles describe the characterization and therapeutic relevance of
the prostanoid receptors as well as the most commonly used selective agonists and
antagonists: *Eicosanoids; From Biotechnology to Therapeutic Applications*, Folco,
Samuelsson, Maclouf, and Velo eds, Plenum Press, New York, 1996, chap. 14, 137-
154 and *Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling*, 1996, 14, 83-87 and
15 *Prostanoid Receptors, Structure, Properties and Function*, S Narumiya et al,
Physiological Reviews 1999, 79(4), 1193-126.

The EP₄ receptor is a 7-transmembrane receptor and its natural ligand is the
prostaglandin PGE₂. PGE₂ also has affinity for the other EP receptors (types
20 EP₁, EP₂ and EP₃). The prostanoid EP₄ receptor falls into a group of receptors
normally associated with elevation of intracellular cyclic adenosine
monophosphate (cAMP) levels. The EP₄ receptor is associated with smooth
muscle relaxation, intraocular pressure, pain (in particular inflammatory,
neuropathic and visceral pain), inflammation, neuroprotection, lymphocyte
25 differentiation, bone metabolic processes, allergic activities, promotion of sleep,
renal regulation, gastric or enteric mucus secretion and duodenal bicarbonate
secretion. The EP₄ receptor plays an important role in closure of the ductus
arteriosus, vasodepression, inflammation and bone remodeling as reviewed by
Narumiya in *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 2002, 68-69 557-73.

30 A number of publications have demonstrated that PGE₂ acting through the EP₄
receptor subtype, and EP₄ agonists alone, can regulate inflammatory cytokines after

18

an inflammatory stimulus. Takayama *et al* in the *Journal of Biological Chemistry* 2002, 277(46), 44147-54 showed PGE₂ modulates inflammation during inflammatory diseases by suppressing macrophage derived chemokine production via the EP₄ receptor. In *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2002, 10(7), 2103-2110, Maruyama *et al* demonstrate the selective EP₄ receptor agonist (ONO-AE1-437) suppresses LPS induced TNF- α in human whole blood whilst increasing the levels of IL-10. An article from *Anesthesiology*, 2002, 97, 170-176 suggests that a selective EP₄ receptor agonist (ONO-AE1-329) effectively inhibited mechanical and thermal hyperalgesia and inflammatory reactions in acute and chronic monoarthritis.

10

Two independent articles from Sakuma *et al* in *Journal of Bone and Mineral Research* 2000, 15(2), 218-227 and Miyaura *et al* in *Journal of Biological Chemistry* 2000, 275(26), 19819-23, report impaired osteoclast formation in cells cultured from EP₄ receptor knock-out mice. Yoshida *et al* in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002, 99(7), 4580-4585, by use of mice lacking each of the PGE₂ receptor EP subtypes, identified EP₄ as the receptor that mediates bone formation in response to PGE₂ administration. They also demonstrated a selective EP₄ receptor agonist (ONO-4819) consistently induces bone formation in wild type mice. Additionally, Terai *et al* in *Bone* 2005, 37(4), 555-562 have shown the presence of a selective EP₄ receptor agonist (ONO-4819) enhanced the bone-inducing capacity of rhBMP-2, a therapeutic cytokine that can induce bone formation.

Further research by Larsen *et al* shows the effects of PGE₂ on secretion in the second part of the human duodenum is mediated through the EP₄ receptor (*Acta. Physiol. Scand.* 2005, 185, 133-140). Also, it has been shown a selective EP₄ receptor agonist (ONO-AE1-329) can protect against colitis in rats (Nitta *et al* in *Scandinavian Journal of Immunology* 2002, 56(1), 66-75).

Doré *et al* in *The European Journal of Neuroscience* 2005, 22(9), 2199-206 have shown that PGE₂ can protect neurons against amyloid beta peptide toxicity by acting on EP₂ and EP₄ receptors. Furthermore Doré has demonstrated in *Brain*

A

Research 2005, 1066(1-2), 71-77 that an EP₄ receptor agonist (ONO-AE1-329) protects against neurotoxicity in an acute model of excitotoxicity in the brain.

Woodward *et al* in Journal of Lipid Mediators 1993, 6(1-3), 545-53 found
5 intraocular pressure could be lowered using selective prostanoid agonists. Two papers in Investigative Ophthalmology & Visual Science have shown the prostanoid EP₄ receptor is expressed in human lens epithelial cells (Mukhopadhyay *et al* 1999, 40(1), 105-12), and suggest a physiological role for the prostanoid EP₄ receptor in modulation of flow in the trabecular framework of
10 the eye (Hoyng *et al* 1999, 40(11), 2622-6).

Compounds exhibiting EP₄ receptor binding activity and their uses have been described in, for example, WO98/55468, WO00/18744, WO00/03980, WO00/15608, WO00/16760, WO00/21532, WO01010426, EP0855389,
15 EP0985663, WO02/047669, WO02/50031, WO02/50032, WO02/50033, WO02/064564, WO03/103604, WO03/077910, WO03/086371, WO04/037813, WO04/067524, WO04/085430, US04/142969, WO05/021508, WO05/105733, WO05/105732, WO05/080367, WO05/037812, WO05/116010 and WO06/122403.

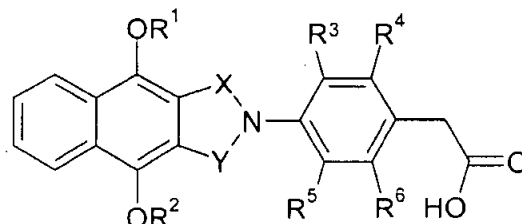
20

Derivatives of indoprofen such as [4-(1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl)phenyl]-2-propionic acid, sodium salt have been described by Rufer *et. al.* in *Eur. J. Med. Chem. – Chimica Therapeutica*, **1978**, 13, 193.

25 The compounds of the present invention have been shown to exhibit advantageous *in vivo* and *in vitro* activities when tested in the biological assays described herein. Certain compounds of the invention have also been shown to exhibit advantageous pharmacokinetic profiles in the rat.

30

The present invention provides compounds of formula (I) and/or pharmaceutically acceptable derivatives thereof,



(I)

wherein,

R^1 and R^2 independently represent C_{1-4} alkyl;

R^3 , R^4 , R^5 and R^6 independently represent H or F, provided that at least one of R^3 and R^4 represents H, at least one of R^5 and R^6 represents H, and at least one of R^3 , R^4 , R^5 and R^6 represents F; and

X and Y independently represent CH_2 or $C=O$, provided that at least one of X and Y represents $C=O$.

In one embodiment of the invention R^1 and R^2 are the same and represent C_{1-4} alkyl. In another embodiment of the invention R^1 and R^2 are independently selected from the group consisting of ethyl, n-propyl and iso-propyl.

In one embodiment of the invention R^3 represents H and R^4 represents F. In another embodiment of the invention R^3 represents F and R^4 represents H.

In one embodiment of the invention R^5 represents H and R^6 represents F. In another embodiment of the invention R^5 represents F and R^6 represents H.

In one embodiment of the invention R^3 represents F and R^4 , R^5 and R^6 represent H. In another embodiment of the invention R^4 represents F and R^3 , R^5 and R^6 represent H. In another embodiment of the invention R^5 represents F and R^3 , R^4

21

and R^6 represent H. In a further embodiment of the invention R^6 represents F and R^3 , R^4 and R^5 represent H.

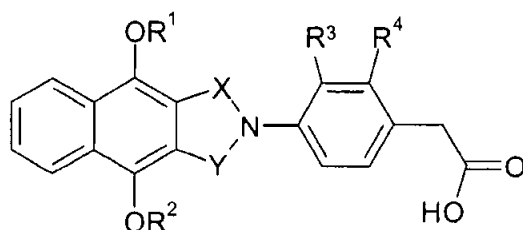
In one embodiment of the invention R^3 and R^5 represent F and R^4 and R^6 represent H.

5

In one embodiment of the invention X represents CH_2 and Y represents $C=O$. In another embodiment of the invention X represents $C=O$ and Y represents CH_2 .

In another embodiment of the invention both X and Y represent $C=O$.

- 10 In one embodiment of the invention there is provided a subset of compounds of formula (I), of formula (IA) and/or pharmaceutically acceptable derivatives thereof,



(IA)

- 15 wherein,

R^1 and R^2 independently represent C_{1-4} alkyl;

R^3 and R^4 independently represent H or F provided that they are not the same;

and

X and Y independently represent CH_2 or $C=O$ provided that at least one of X and

- 20 Y represents $C=O$.

In another embodiment of the invention there is provided a compound of formula (I) selected from the group consisting of:

{4-[4,9-Bis(ethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-

- 25 fluorophenyl}acetic acid;

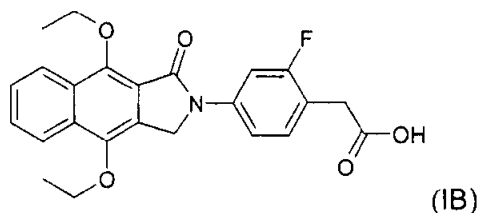
{4-[1,3-Dioxo-4,9-bis(propoxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-

fluorophenyl}acetic acid;

- (4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl)acetic acid;
 {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid;
 5 {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid;
 {2-Fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetic acid;
 (4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-2-fluorophenyl)acetic acid;
 10 {3-Fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetic acid; and
 (4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl)acetic acid;
 15 {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid;
 {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid; and/or a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

20

In another embodiment of the invention there is provided a compound of formula (I) being {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid (IB),



25

or a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

23

The present invention covers all combinations of the embodiments described herein.

As used herein, the term 'C₁₋₄ alkyl' includes straight chain and branched chain alkyl groups containing 1 to 4 carbon atoms, such as methyl, ethyl, n-propyl, *iso*-propyl, n-butyl and *iso*-butyl. The term 'C₁₋₆ alkyl' may be interpreted accordingly.

As used herein, F means fluoro.

10 By pharmaceutically acceptable derivative is meant any pharmaceutically acceptable salt, solvate or ester, or salt or solvate of such ester of the compounds of formula (I), or any other compound which upon administration to the recipient is capable of providing (directly or indirectly) a compound of formula (I) or an active metabolite or residue thereof. In one embodiment of the invention
15 pharmaceutically acceptable derivative means salt, solvate or ester, or salt or solvate of such ester. In another embodiment of the invention pharmaceutically acceptable derivative means salt or ester, or salt of such ester.

It will be appreciated that, for pharmaceutical use, the salts referred to above will
20 be the pharmaceutically acceptable salts, but other salts may find use, for example in the preparation of compounds of formula (I) and the pharmaceutically acceptable salts thereof.

Pharmaceutically acceptable salts include those described by Berge, Bighley and
25 Monkhouse, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19. The term "pharmaceutically acceptable salts" refers to salts prepared from pharmaceutically acceptable bases including inorganic bases and organic bases. Salts derived from inorganic bases include aluminum, ammonium, calcium, copper, ferric, ferrous, lithium, magnesium, manganic salts, manganous, potassium, sodium, zinc, and the like. Salts derived
30 from pharmaceutically acceptable organic bases include salts of primary, secondary, and tertiary amines; substituted amines including naturally occurring substituted amines; and cyclic amines. Particular pharmaceutically acceptable organic bases

include arginine, betaine, caffeine, choline, N,N'-dibenzylethylenediamine, diethylamine, 2-diethylaminoethanol, 2-dimethylaminoethanol, ethanolamine, ethylenediamine, N-ethyl-morpholine, N-ethylpiperidine, glucamine, glucosamine, histidine, hydrabamine, isopropylamine, lysine, methylglucamine, morpholine, piperazine, piperidine, procaine, purines, theobromine, triethylamine, trimethylamine, tripropyl amine, tris(hydroxymethyl)aminomethane, and the like. Salts may also be formed from basic ion exchange resins, for example polyamine resins.

In one embodiment of the invention there is provided the sodium salt of {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid. In another embodiment of the invention there is provided the potassium salt of {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid. In another of the invention there is provided the choline salt of {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid.

It will be appreciated that the compounds of formula (I) may be produced in vivo by metabolism of a suitable prodrug. Such prodrugs may be for example physiologically acceptable metabolically labile esters of compounds of formula (I). These may be formed by esterification of the carboxylic acid group in the parent compound of formula (I) with, where appropriate, prior protection of any other reactive groups present in the molecule followed by deprotection if required. Examples of such metabolically labile esters include C₁₋₄alkyl esters e.g. methyl ethyl or t-butyl esters, C₃₋₆ alkenyl esters e.g. allyl substituted or unsubstituted aminoalkyl esters (e.g. aminoethyl, 2-(N,N- diethylamino) ethyl, or 2-(4-morpholino)ethyl esters or acyloxyalkyl esters such as, acyloxymethyl or 1-acyloxyethyl e.g. pivaloyloxymethyl, 1-pivaloyloxyethyl, acetoxymethyl, 1-acetoxyethyl, 1-(1-methoxy-1-methyl)ethylcarbonyloxyethyl, 1- benzoyloxyethyl, isopropoxycarbonyloxymethyl, 1-isopropoxycarbonyloxyethyl, cyclohexylcarbonyloxymethyl, 1-cyclohexylcarbonyloxyethyl ester, cyclohexyloxycarbonyloxymethyl, 1-cyclohexyloxycarbonyloxyethyl, 1-(4-

29

tetrahydropyranyloxy)carbonyloxyethyl or 1-(4-tetrahydropyranyl)carbonyloxyethyl.

5 It is to be understood that the present invention encompasses all isomers of the compounds of formula (I) and their pharmaceutically acceptable derivatives, including all geometric, tautomeric and optical forms, and mixtures thereof (e.g. racemic mixtures).

10 Since the compounds of formula (I) are intended for use in pharmaceutical compositions, it will be understood that they are each provided in substantially pure form, for example at least 50% pure, at least 75% pure and at least 95% pure (% are on a wt/wt basis). Impure preparations of the compounds of formula (I) may be used for preparing the more pure forms used in the pharmaceutical compositions. Although the purity of intermediate compounds of the present
15 invention is less critical, it will be readily understood that the substantially pure form is preferred as for the compounds of formula (I). Whenever possible, the compounds of the present invention are obtained in crystalline form.

20 When some of the compounds of this invention are allowed to crystallise or are recrystallised from organic solvents, solvent of crystallisation may be present in the crystalline product. This invention includes within its scope such solvates, including solvates of the free acid molecule and solvates of salts derived from the free acid molecule. Similarly, some of the compounds of this invention may be crystallised or recrystallised from solvents containing water. In such cases
25 water of hydration may be formed. This invention includes within its scope stoichiometric hydrates as well as compounds containing variable amounts of water that may be produced by processes such as lyophilisation. This invention also includes within its scope anhydrous forms of the compounds of formula (I).

30 In addition, different crystallisation conditions may lead to the formation of different polymorphic forms of crystalline products. This invention includes within its scope all polymorphic forms of the compounds of formula (I).

The present invention also includes within its scope all isotopically-labelled compounds of formula (I). Such compounds are identical to those recited above except that one or more atoms therein are replaced by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number usually found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of formula (I) and pharmaceutically acceptable derivatives thereof include isotopes of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen and fluorine, such as 2H , 3H , 11C , 13C , 14C , 15N , 17O , 18O and 18F .

10

Isotopically-labelled compounds of formula (I), for example those into which radioactive isotopes such as 3H , 14C are incorporated, are useful in drug and/or substrate tissue distribution assays. Tritiated, i.e., 3H , and carbon-14, i.e., 14C , isotopes are particularly preferred for their ease of preparation and detectability. 11C and 18F isotopes are particularly useful in PET (positron emission tomography), and are useful in brain imaging. Further substitution with heavier isotopes such as deuterium, i.e., 2H , can afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability, for example increased *in vivo* half-life or reduced dosage requirements and, hence, may be preferred in some circumstances. Isotopically labelled compounds of formula (I) may be prepared by carrying out the synthetic procedures disclosed in the Schemes and/or in the Examples below, by substituting a readily available isotopically labelled reagent for a non-isotopically labelled reagent.

The compounds of formula (I) are EP_4 receptor agonists and may therefore be useful in treating EP_4 receptor mediated diseases.

In particular the compounds of formula (I) may be useful in the treatment of pain, for example, chronic articular pain (e.g. rheumatoid arthritis, osteoarthritis, rheumatoid spondylitis, gouty arthritis and juvenile arthritis) including the property of disease modification and joint structure preservation; musculoskeletal pain;

lower back and neck pain; sprains and strains; neuropathic pain; sympathetically maintained pain; myositis; pain associated with cancer and fibromyalgia; pain associated with migraine; pain associated with influenza or other viral infections, such as the common cold; rheumatic fever; pain associated with functional bowel disorders such as non-ulcer dyspepsia, non-cardiac chest pain and irritable bowel syndrome; pain associated with myocardial ischemia; post operative pain; headache; toothache; and dysmenorrhea.

The compounds of formula (I) may be particularly useful in the treatment of neuropathic pain and symptoms associated therewith. Neuropathic pain syndromes include: diabetic neuropathy; sciatica; non-specific lower back pain; multiple sclerosis pain; fibromyalgia; HIV-related neuropathy; post-herpetic neuralgia; trigeminal neuralgia; and pain resulting from physical trauma, amputation, cancer, toxins or chronic inflammatory conditions. Symptoms of neuropathic pain include spontaneous shooting and lancinating pain, or ongoing, burning pain. In addition, there is included pain associated with normally non-painful sensations such as "pins and needles" (paraesthesias and dysesthesias), increased sensitivity to touch (hyperesthesia), painful sensation following innocuous stimulation (dynamic, static or thermal allodynia), increased sensitivity to noxious stimuli (thermal, cold, mechanical hyperalgesia), continuing pain sensation after removal of the stimulation (hyperpathia) or an absence of or deficit in selective sensory pathways (hypoalgesia).

The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of inflammation, for example in the treatment of skin conditions (e.g. sunburn, burns, eczema, dermatitis, psoriasis); ophthalmic diseases such as glaucoma, retinitis, retinopathies, uveitis and of acute injury to the eye tissue (e.g. conjunctivitis); lung disorders (e.g. asthma, bronchitis, emphysema, allergic rhinitis, respiratory distress syndrome, pigeon fancier's disease, farmer's lung, COPD; gastrointestinal tract disorders (e.g. aphthous ulcer, Crohn's disease, atopic gastritis, gastritis varioliforme, ulcerative colitis, coeliac disease, regional ileitis, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, gastrointestinal



reflux disease, diarrhoea, constipation); organ transplantation; other conditions with an inflammatory component such as vascular disease, migraine, periarteritis nodosa, thyroiditis, aplastic anaemia, Hodgkin's disease, sclerodoma, myaesthesia gravis, multiple sclerosis, sarcoidosis, nephrotic syndrome,

5 Bechet's syndrome, polymyositis, gingivitis, myocardial ischemia, pyrexia, systemic lupus erythematosus, polymyositis, tendinitis, bursitis, and Sjogren's syndrome.

The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of

10 immunological diseases such as autoimmune diseases, immunological deficiency diseases or organ transplantation. The compounds of formula (I) may also be effective in increasing the latency of HIV infection.

The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of diseases of

15 excessive or unwanted platelet activation such as intermittent claudication, unstable angina, stroke, and acute coronary syndrome (e.g. occlusive vascular diseases).

The compounds of formula (I) may also be useful as a drug with diuretic action,

20 or may be useful to treat overactive bladder syndrome.

The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of impotence or erectile dysfunction.

25 The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of bone disease characterised by abnormal bone metabolism or resorption such as osteoporosis (especially postmenopausal osteoporosis), hyper-calcemia, hyperparathyroidism, Paget's bone diseases, osteolysis, hypercalcemia of malignancy with or without bone metastases, rheumatoid arthritis, periodontitis,

30 osteoarthritis, ostealgia, osteopenia, calculosis, lithiasis (especially urolithiasis), gout and ankylosing spondylitis, tendinitis and bursitis.



The compounds of formula (I) may also be useful in bone remodelling and/or promoting bone generation and/or promoting fracture healing.

- 5 The compounds of formula (I) may also be useful for attenuating the hemodynamic side effects of NSAIDs and COX-2 inhibitors.

- 10 The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of cardiovascular diseases such as hypertension or myocardial ischemia; functional or organic venous insufficiency; varicose therapy; haemorrhoids; and shock states associated with a marked drop in arterial pressure (e.g. septic shock).

- 15 The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of neurodegenerative diseases such as dementia, particularly degenerative dementia (including senile dementia, Alzheimer's disease, Pick's disease, Huntingdon's chorea, Parkinson's disease and Creutzfeldt-Jakob disease, Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), motor neuron disease); vascular dementia (including multi-infarct dementia); as well as dementia associated with intracranial space occupying lesions; trauma; infections and related conditions (including HIV infection); metabolism; toxins; anoxia and vitamin deficiency; and 20 mild cognitive impairment associated with ageing, particularly Age Associated Memory Impairment.

- 25 The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of neurological disorders and may be useful as neuroprotecting agents. The compounds of the invention may also be useful in the treatment of neurodegeneration following stroke, cardiac arrest, pulmonary bypass, traumatic brain injury, spinal cord injury or the like.

- 30 The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of complications of Type 1 diabetes (e.g. diabetic microangiopathy, diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, macular degeneration, glaucoma), nephrotic syndrome, aplastic anaemia, uveitis, Kawasaki disease and sarcoidosis.



The compounds of formula (I) may also be useful in the treatment of a kidney dysfunction (nephritis, particularly mesangial proliferative glomerulonephritis, nephritic syndrome), a liver dysfunction (hepatitis, cirrhosis) and gastrointestinal
5 dysfunction (diarrhoea).

It is to be understood that as used herein any reference to treatment includes both treatment of established symptoms and prophylactic treatment.

10 According to a further embodiment the invention, there is provided a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof for use in human or veterinary medicine.

According to another embodiment of the invention, there is provided a compound
15 of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof for use in the treatment of a condition which is mediated by the action, or loss of action, of PGE₂ at EP₄ receptors.

According to a further embodiment of the invention, there is provided a method
20 of treating a human or animal subject suffering from a condition which is mediated by the action, or by loss of action, of PGE₂ at EP₄ receptors which comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

25 According to a further embodiment of the invention there is provided a method of treating a human or animal subject suffering from a pain, or an inflammatory, immunological or bone disease, a neurodegenerative disease or a kidney dysfunction, which method comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative
30 thereof.



According to another embodiment of the invention, there is provided the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof for the manufacture of a medicament for the treatment of a condition which is mediated by the action of PGE₂ at EP₄ receptors.

5

According to another embodiment of the invention there is provided the use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof for the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of a condition such as a pain, or an inflammatory, immunological, bone, neurodegenerative or kidney disorder.

10

The compounds of formula (I) and their pharmaceutically acceptable derivatives are conveniently administered in the form of pharmaceutical compositions. Such compositions may conveniently be presented for use in conventional manner in admixture with one or more physiologically acceptable carriers or excipients.

15

Thus, in another aspect of the invention, there is provided a pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof adapted for use in human or veterinary medicine.

20

While it is possible for the compounds of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof to be administered as the raw chemical, it is preferable to present it as a pharmaceutical formulation. The formulations of the present invention comprise the compounds of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof together with one or more acceptable carriers or diluents therefor and optionally other therapeutic ingredients. The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof. Thus, in one embodiment the invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent therefor.

25

30

32

The formulations include those suitable for oral, parenteral (including subcutaneous e.g. by injection or by depot tablet, intradermal, intrathecal, intramuscular e.g. by depot and intravenous), rectal and topical (including dermal, buccal and sublingual) administration although the most suitable route may depend upon for example the condition and disorder of the recipient. The formulations may conveniently be presented in unit dosage form and may be prepared by any of the methods well known in the art of pharmacy (see for example methods disclosed in 'Remington – The Science and Practice of Pharmacy', 21st Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, USA, 2005 and references therein). All methods include the step of bringing into association the compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof ("active ingredient") with the carrier which constitutes one or more accessory ingredients. In general the formulations are prepared by uniformly and intimately bringing into association the active ingredient with liquid carriers or finely divided solid carriers or both and then, if necessary, shaping the product into the desired formulation.

Formulations of the present invention suitable for oral administration may be presented as discrete units such as capsules, cachets or tablets (e.g. chewable tablets in particular for paediatric administration) each containing a predetermined amount of the active ingredient; as a powder or granules; as a solution or a suspension in an aqueous liquid or a non-aqueous liquid; or as an oil-in-water liquid emulsion or a water-in-oil liquid emulsion. The active ingredient may also be presented as a bolus, electuary or paste.

A tablet may be made by compression or moulding, optionally with one or more accessory ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing in a suitable machine the active ingredient in a free-flowing form such as a powder or granules, optionally mixed with a binder, lubricant, inert diluent, lubricating, surface active or dispersing agent. Moulded tablets may be made by moulding in a suitable machine a mixture of the powdered compound moistened with an inert liquid diluent. The tablets may optionally be coated or scored and may be



formulated so as to provide slow or controlled release of the active ingredient therein.

Formulations for parenteral administration include aqueous and non-aqueous
5 sterile injection solutions which may contain anti-oxidants, buffers, bacteriostats
and solutes which render the formulation isotonic with the blood of the intended
recipient; and aqueous and non-aqueous sterile suspensions which may include
suspending agents and thickening agents. The formulations may be presented
in unit-dose or multi-dose containers, for example sealed ampoules and vials,
10 and may be stored in a freeze-dried (lyophilised) condition requiring only the
addition of a sterile liquid carrier, for example, water-for-injection, immediately
prior to use. Extemporaneous injection solutions and suspensions may be
prepared from sterile powders, granules and tablets of the kind previously
described.

15

Formulations for rectal administration may be presented as a suppository with
the usual carriers such as cocoa butter, hard fat or polyethylene glycol.

Formulations for topical administration in the mouth, for example buccally or
20 sublingually, include lozenges comprising the active ingredient in a flavoured
basis such as sucrose and acacia or tragacanth, and pastilles comprising the
active ingredient in a basis such as gelatin and glycerin or sucrose and acacia.

The compounds of formula (I) may also be formulated as depot preparations.
25 Such long acting formulations may be administered by implantation (for example
subcutaneously or intramuscularly) or by intramuscular injection. Thus, for
example, the compounds of formula (I) may be formulated with suitable
polymeric or hydrophobic materials (for example as an emulsion in an acceptable
oil) or ion exchange resins, or as sparingly soluble derivatives, for example, as a
30 sparingly soluble salt.

34

In addition to the ingredients particularly mentioned above, the formulations may include other agents conventional in the art having regard to the type of formulation in question, for example those suitable for oral administration may include flavouring agents.

5

The compounds of formula (I) may be used in combination with other therapeutic agents, for example COX-2 inhibitors, such as celecoxib, rofecoxib, valdecoxib or parecoxib; 5-lipoxygenase inhibitors; analgesics such as paracetamol; NSAID's, such as diclofenac, indomethacin, nabumetone, naproxen or ibuprofen; leukotriene receptor antagonists; DMARD's such as methotrexate; sodium channel blockers, such as lamotrigine; N-type calcium channel antagonists; NMDA receptor modulators, such as glycine receptor antagonists; gabapentin, pregabalin and related compounds; tricyclic antidepressants such as amitriptyline; neurone stabilising antiepileptic drugs; mono-aminergic uptake inhibitors such as venlafaxine; opioid analgesics; local anaesthetics; 5HT₁ agonists, such as triptans, for example sumatriptan, naratriptan, zolmitriptan, eletriptan, frovatriptan, almotriptan or rizatriptan; EP₁ receptor ligands; EP₂ receptor ligands; EP₃ receptor ligands; EP₁ antagonists; EP₂ antagonists and EP₃ antagonists; cannabinoid receptor agonists; VR1 antagonists. When the compounds are used in combination with other therapeutic agents, the compounds may be administered either sequentially or simultaneously by any convenient route.

The invention thus provides, in a further embodiment, a combination comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof together with a further therapeutic agent or agents. In one embodiment of the invention there is provided a combination comprising a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof and paracetamol. In particular, the invention provides a combination comprising 4-[4,9-Bis(ethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid or a pharmaceutically acceptable derivative thereof and paracetamol.

In still a further embodiment of the invention there is provided a combination comprising an EP₄ receptor agonist or a pharmaceutically acceptable derivative thereof and paracetamol. Suitable EP₄ receptor agonists include those described herein, including compounds of formula (I) and those compounds
5 described in WO02/064564, such as [4-(4,9-dipropoxy-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl)phenyl]acetic acid and WO01/10426, such as [4-(4,9-diethoxy-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl)phenyl]acetic acid.

The combinations referred to above may conveniently be presented for use in
10 the form of a pharmaceutical formulation and thus pharmaceutical formulations comprising a combination as defined above together with a pharmaceutically acceptable carrier or excipient comprise a further aspect of the invention. In particular there is provided a pharmaceutical composition comprising a
compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof,
15 paracetamol and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent therefor. In another embodiment there is also provided a pharmaceutical composition comprising {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, paracetamol and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent therefor.
20 The individual components of such combinations may be administered either sequentially or simultaneously in separate or combined pharmaceutical formulations.

When a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative
25 thereof is used in combination with a second therapeutic agent active against the same disease, the dose of each compound may differ from that when the compound is used alone. Appropriate doses will be readily appreciated by those skilled in the art.

30 In one embodiment of the invention there is provided a method of treating a human or animal subject suffering from a condition which is mediated by the action, or by loss of action, of PGE₂ at EP₄ receptors which comprises

administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof and paracetamol.

In another embodiment of the invention there is provided a method of treating a human or animal subject suffering from a condition which is mediated by the action, or by loss of action, of PGE₂ at EP₄ receptors which comprises
5 administering to said subject an effective amount of {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid or a pharmaceutically acceptable derivative thereof and paracetamol.

10 A proposed daily dosage of compounds of formula (I) or their pharmaceutically acceptable salts for the treatment of man is from 0.001 to 30 mg/kg body weight per day and more particularly 0.1 to 3 mg/kg body weight per day, calculated as the free acid, which may be administered as a single or divided dose, for example one to four times per day. The dose range for adult human beings is
15 generally from 0.1 to 1000 mg/day, such as from 10 to 800 mg/day, preferably 10 to 200 mg/day, calculated as the free acid.

A suitable daily dosage of paracetamol is up to 4000 mg per day. Suitable unit doses include 200, 400, 500 and 1000 mg, one, two, three or four times per day.

20

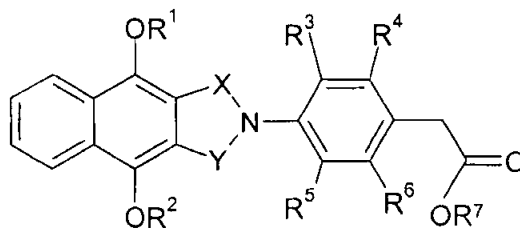
The precise amount of the compounds of formula (I) administered to a host, particularly a human patient, will be the responsibility of the attendant physician. However, the dose employed will depend on a number of factors including the age and sex of the patient, the precise condition being treated and its severity,
25 the route of administration, and any possible combination therapy that may be being undertaken.

The present invention provides a process for preparing the compounds of formula (I) and pharmaceutically acceptable derivatives thereof.

30

Thus, in one embodiment of the invention there is provided a process for preparing a compound of formula (I) wherein, one of X and Y represents C=O

and the other represents CH_2 and $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$ and R^6 are as hereinbefore defined in relation to formula (I), which process comprises reacting a compound of formula (II),



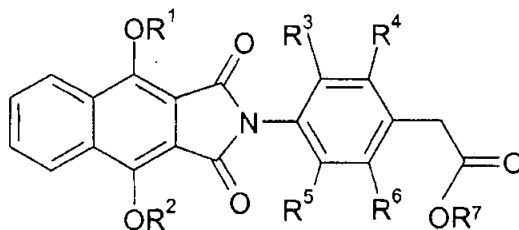
5

(II)

wherein, one of X and Y represents $\text{C}=\text{O}$ and the other represents CH_2 ; $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$ and R^6 are as hereinbefore defined in relation to formula (I); and R^7 represents C_{1-6} alkyl; with a suitable base, such as sodium hydroxide, and optionally thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

In one embodiment the above-mentioned reaction comprising a compound of formula (II) is performed in a suitable solvent, such as ethanol, under reflux.

In another embodiment of the invention there is provided a process for preparing a compound of formula (I), wherein X and Y represent $\text{C}=\text{O}$ and $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$ and R^6 are as hereinbefore defined in relation to formula (I), which process comprises adding a compound of formula (III),



(III)

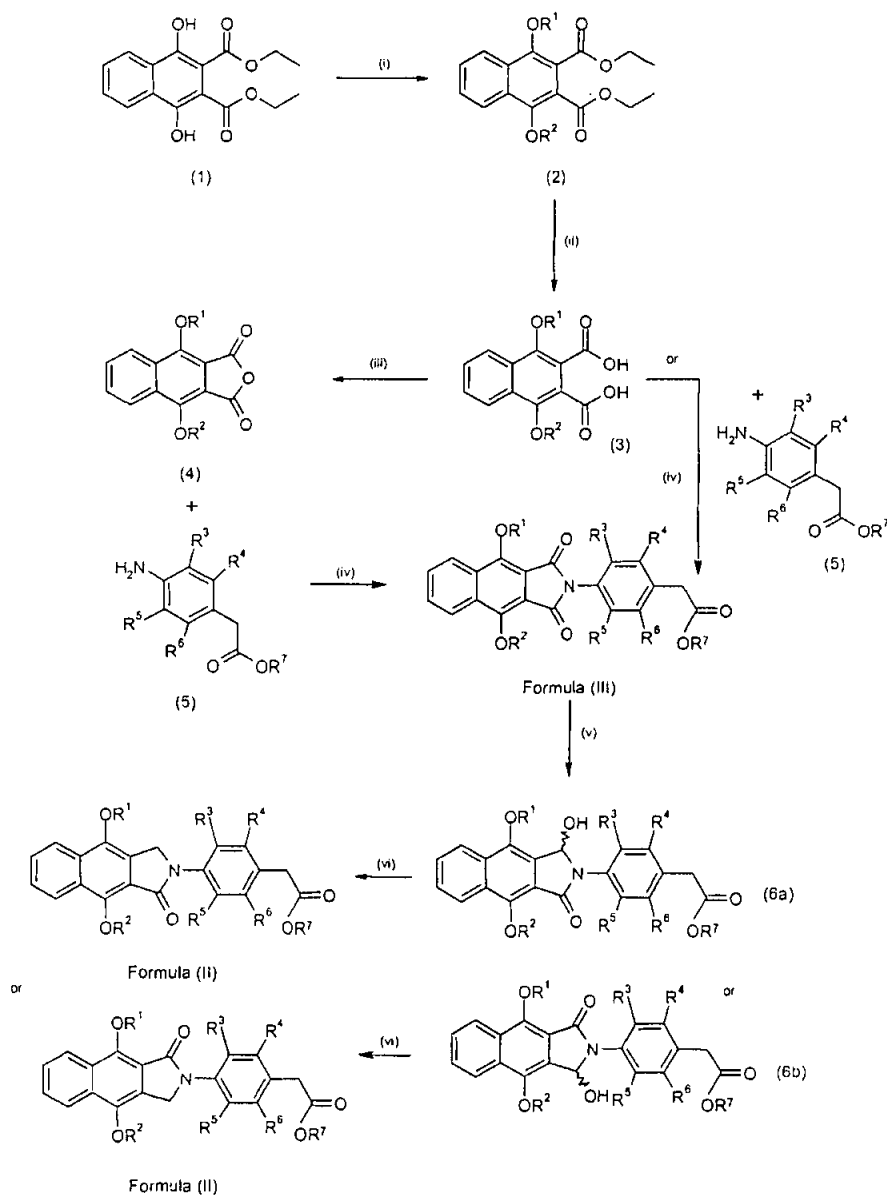
wherein, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are as hereinbefore defined in relation to formula (I); and R^7 represents C_{1-6} alkyl; to a suitable acid or mixture of acids, such as glacial acetic acid in the presence of hydrochloric acid, and optionally
5 thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

In one embodiment the above-mentioned reaction comprising a compound of formula (III) is performed at a temperature in the range from about 50 to 110 °C,
10 for a time period in the range from about 2 to 70 hours. In one embodiment, the molar ratio of glacial acetic acid to acid, such as hydrochloric acid, present in the reaction mixture is 1:1.

It will be appreciated that compounds of formula (I) wherein one of X and Y
15 represents $C=O$ and the other represents CH_2 and R^1 , R^2 , R^3 and R^4 are as hereinbefore defined in relation to formula (I), may also be prepared using the acid hydrolysis conditions outlined above.

Compounds of formula (II) and (III) may be prepared according to Scheme 1.

Scheme 1



- 5 (i) R-Br or R-I, K₂CO₃, acetone; (ii) NaOH/H₂O, EtOH; (iii) SOCl₂, CHCl₃ or EtOH; (iv) CH₃CO₂H, optionally DMAP; (v) NaBH₄, MeOH/THF; (vi) Et₃SiH, TFA or TFA/DCM or DCM; (where R = R¹ = R²; and R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ and R⁷ are as defined in relation to formula (II)).

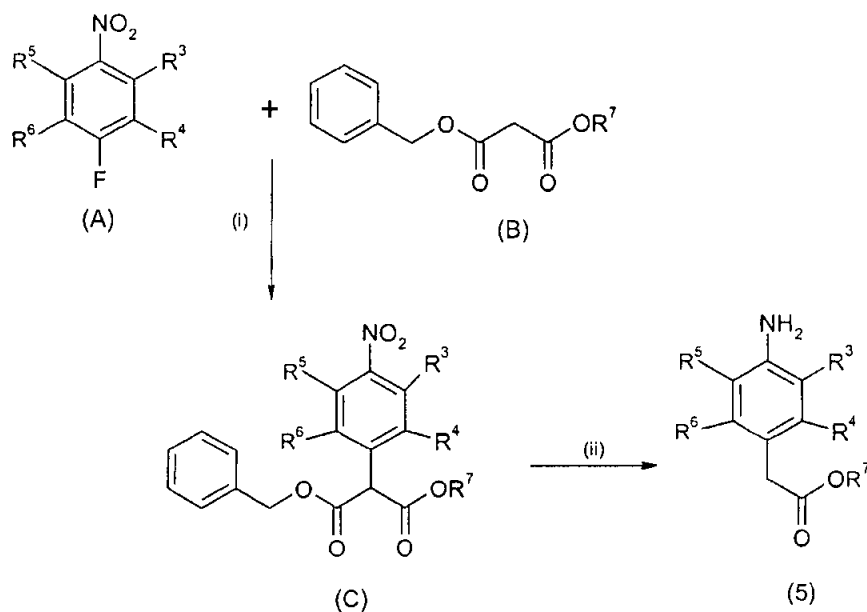
ND

Compounds of formula (2) where $R^1 \neq R^2$ may be prepared by reacting the compound of formula (1) in a stepwise manner with an alkyl halide R^1X , followed by a second alkyl halide, R^2X , or vice versa, under the aforementioned conditions.

Compound (1) may be prepared from diethyl phthalate in accordance with the method disclosed in International Patent Application, Publication Number WO02/064564.

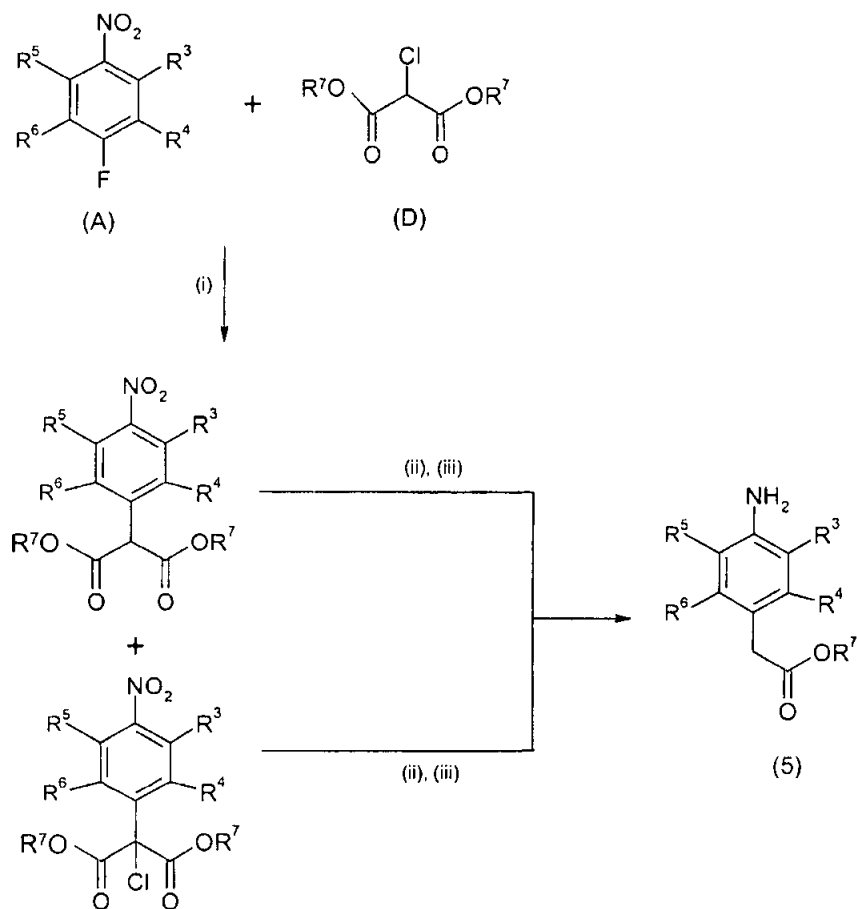
Compounds of formula (5) may be prepared according to Schemes 2, 3 and 4.

Scheme 2



(i) NaH , dry DMF ; (ii) $\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$, EtOH , Pd/C ; (where $\text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6$ and R^7 are as defined in relation to Formula (II)).

Scheme 3



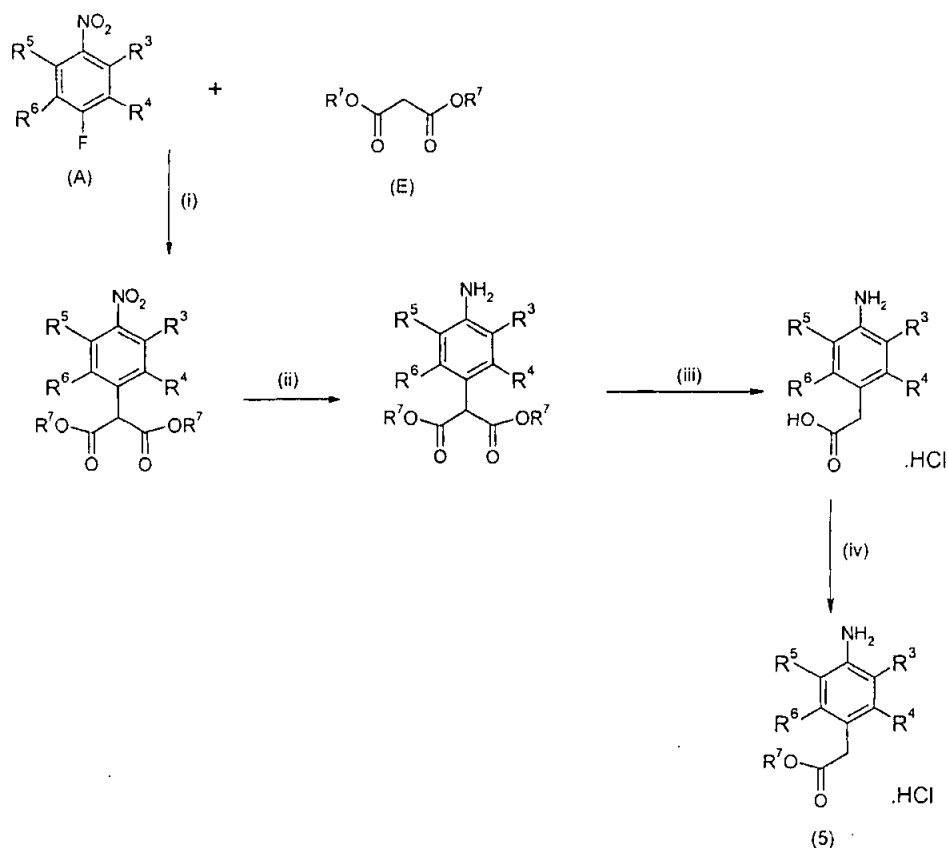
5

(i) NaOH, dry DMF; (ii) $\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$, EtOH, Pd/C; (iii) NaOH, H_2O , EtOH (where R^3 , R^4 , R^5 , R^6 and R^7 are as defined in relation to Formula (II)).

10

15

Scheme 4



- 5 (i) Base (e.g. K_2CO_3). $50^\circ C$, dry DMF; (ii) H_2 , Pd/C; (iii) $HCl_{(aq)}$; and (iv) EtOH, HCl (where R^3 , R^4 , R^5 , R^6 and R^7 are as defined in relation to Formula (II)).

Compounds of formula (A) are commercially available or may be prepared in accordance with methods known in the art (for example 2,4-difluoronitrobenzene
10 and 3,4-difluoronitrobenzene may be purchased from Sigma-Aldrich Co. Ltd.).

Compounds of formula (B) are commercially available or may be prepared in accordance with methods known in the art (for example benzyl ethyl malonate may be purchased from Sigma-Aldrich Co. Ltd.).

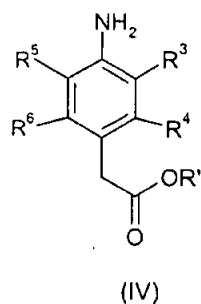
15

13

Compounds of formula (D) are commercially available or may be prepared in accordance with methods known in the art (for example, diethylchloromalonate may be purchased from Sigma-Aldrich Co. Ltd).

- 5 Compounds of formula (E) are commercially available or may be prepared in accordance with methods known in the art (for example, diethylmalonate may be purchased from Sigma-Aldrich Co. Ltd).

- 10 In another embodiment of the invention there is provided a process for preparing a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, which process comprises reacting a compound of formula (3) or a compound of formula (4), as described in Scheme 1, with a compound of formula (IV),



- 15 wherein R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are as defined in relation to formula (I) and R' represents H or C_{1-6} alkyl, and optionally thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

- 20 Compounds of formula (IV) where R' represents H may be prepared by the hydrolysis of compounds of formula (5).

- 25 The following Descriptions and Examples illustrate the preparation of the compounds of formula (I). Descriptions refer to intermediate compounds.

M4

Abbreviations

DCM	Dichloromethane
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridine
DMF	Dimethylformamide
5 DMSO	Dimethylsulfoxide
EtOH	Ethanol
EtOAc	Ethyl acetate
HCl	Hydrochloric acid
LC/MS	Liquid chromatography/Mass spectroscopy
10 MeOH	Methanol
MDAP	Mass Directed Auto Preparation
NaOH	Sodium hydroxide
TFA	Trifluoroacetic acid
THF	Tetrahydrofuran

15

Analytical procedures**LC/MS****Column**

Waters Atlantis (4.6mm x 50mm). Stationary phase particle size, 3 μ m.

20

Solvents

A: Aqueous solvent = Water + 0.05% Formic Acid

B: Organic solvent = Acetonitrile + 0.05% Formic Acid

25

Method

Time / min	%B
0	3
0.1	3
4	97
4.8	97
4.9	3
5.0	3

- Flow rate, 3ml/mins.
- Injection volume, 5 μ l.

MS

- Column temperature, 30°C.
- UV detection range, 220 to 330nm.

All retention times are measured in minutes.

5

As used herein 'CV' means column volumes.

NMR

¹H NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE 400 NMR spectrometer or
10 a Bruker DPX250 NMR spectrometer. Chemical shifts are expressed in parts per
million (ppm, δ units). Coupling constants (*J*) are in units of hertz (Hz). Splitting
patterns describe apparent multiplicities and are designated as s (singlet), d
(doublet), t (triplet), q (quartet), dd (double doublet), dt (double triplet), m
(multiplet), br (broad).

15

Purification Techniques

Purification of the Examples may be carried out by conventional methods such
as chromatography and/or recrystallisation using suitable solvents.

Chromatographic methods include column chromatography, flash
20 chromatography, HPLC (high performance liquid chromatography), SFC
(supercritical fluid chromatography), and MDAP (mass directed autoprparation).

The term "Biotage" when used herein refers to commercially available pre-
packed silica gel cartridges.

25

Mass Directed Auto Preparation (MDAP)

Column

Waters Atlantis: 19mm x 100mm (small scale); and 30mm x 100mm (large
scale).

30 Stationary phase particle size, 5 μ m.

10

Solvents

A: Aqueous solvent = Water + 0.1% Formic Acid

B: Organic solvent = Acetonitrile + 0.1% Formic Acid.

Make up solvent = Methanol : Water 80:20

- 5 Needle rinse solvent = Methanol

Methods

Five methods were used depending on the analytical retention time of the compound of interest:

10

- (1) Large/Small Scale 1.0-1.5 = 5-30% B
- (2) Large/Small Scale 1.5-2.2 = 15-55% B
- (3) Large/Small Scale 2.2-2.9 = 30-85% B
- (4) Large/Small Scale 2.9-3.6 = 50-99% B

15

Runtime, 13.5 minutes, comprising 10-minute gradient followed by a 3.5 minute column flush and re-equilibration step.

- (5) Large/Small Scale 3.6-5.0 = 80-99% B

20

Runtime, 13.5 minutes, comprising 6-minute gradient followed by a 7.5 minute column flush and re-equilibration step.

Where indicated, 'shallow gradient' conditions were employed as follows:

25

- Large 1.5 to 2.3 min = 13-29% B
- Large 1.9 to 2.3 min = 25-41% B
- Large 2.3 to 2.6 min = 37-53% B
- Large 2.6 to 3.1 min = 49-65% B
- Large 3.1 to 3.6 min = 61-77% B

30

Runtime, 13.5 minutes, comprising 10-minute gradient followed by a 3.5 minute column flush and re-equilibration step.

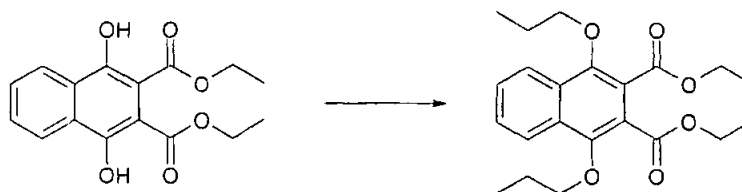
M7

Flow rate

20mls/min (Small Scale) or 40mls/min (Large Scale).

Description 1a

5 *Diethyl 1,4-bis(propoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate*



Diethyl 1,4-dihydroxy-2,3-naphthalenedicarboxylate* (11g, 36.1mmol) was
10 dissolved in acetone (180ml) and potassium carbonate (24.9g, 180.5mmol)
added and stirred. 1-Bromopropane (13.1ml, 144.4mmol) was added and the
reaction mixture was heated at reflux (60°C) overnight under argon. The
reaction was cooled to room temperature and the inorganic solid filtered off. The
solvent was evaporated to give an orange brown oil. The residue was taken up
15 in toluene and washed with 5% potassium hydroxide solution, brine and dried
over magnesium sulphate. Solvent was removed under vacuum to give a brown
oil which was purified by chromatography on silica gel eluting with 10% ethyl
acetate in hexane. The clean fractions were evaporated to give the title
compound as yellow oil (11.45g, 29.5mmol).

20

LC/MS: Rt=3.87, [MH]⁺ 389

Description 1b

Diethyl 1,4-bis(ethyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate

25

28



Diethyl 1,4-dihydroxy-2,3-naphthalenedicarboxylate* (25g, 82.2mmol) was dissolved in acetone (400ml) and potassium carbonate (34g, 246.5mmol) was added. This was stirred for 20 minutes. Ethyl iodide (19.8ml, 246.5mmol) was added and heated to 60°C for 7 hours. Cooled to room temperature and solid removed by filtration. Solvent was evaporated to give an orange oil which was partitioned between ethyl acetate and brine. Aqueous layer was extracted with ethyl acetate (x3) and combined organics washed with water and dried over MgSO₄. Evaporated to give a brown solid (~29g). Crude material was purified by flash column chromatography eluting with 0-15% ethyl acetate in hexane over 30CV (hexane 2CV, 5% EtOAc/hexane 2CV, 10% EtOAc/hexane 4CV, 12% EtOAc/hexane 2CV, 15% EtOAc/hexane 20CV). Fractions evaporated to give pink solid. Triturated in cold hexane to give the title compound as a white solid (3 batches, total 24.83g, 68.9mmol).

LC/MS: Rt = 3.52, [MH]⁺287

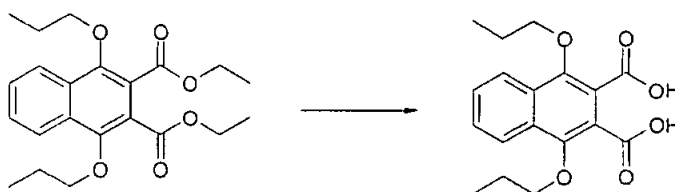
* Diethyl 1,4-dihydroxy-2,3-naphthalenedicarboxylate may be prepared in accordance with the method disclosed in International Patent Application, Publication Number WO02/064564.

The following compound was prepared in a similar manner to diethyl 1,4-bis(propoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate using the appropriate starting materials.

	Name	LC/MS
	Diethyl 1,4-bis(1-methylethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate	Rt=3.63 [MH] ⁺ 389

Description 2a*1,4-Bis(propyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid*

5



Diethyl 1,4-bis(propyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate (11.45g, 29.5mmol) was dissolved in ethanol (70ml) and treated with sodium hydroxide (3.54g, 88.5mmol) dissolved in water (15ml). This was heated at 60°C under argon for 4 hours.

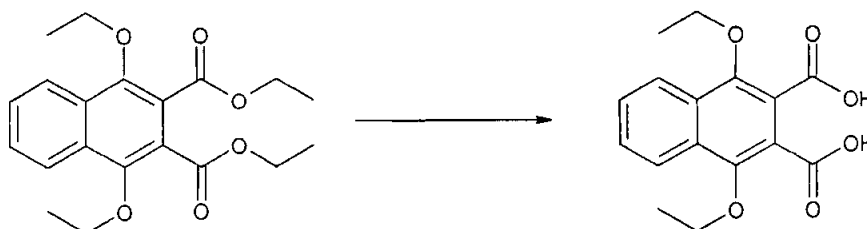
- 10 The reaction was confirmed to be complete by LC/MS and thin layer chromatography. The reaction mixture was cooled to room temperature and evaporated to a third of the volume. This was acidified to pH2 with hydrochloric acid (2N) and extracted with ethyl acetate (3x 100ml). Combined organics washed with water, brine and dried over magnesium sulphate. Solvent was
- 15 evaporated to give the title compound as a yellow solid (8.91g, 26.8mmol).

LC/MS: Rt=2.74, [MH]⁺ 333

Description 2b*1,4-Bis(ethyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid*

20

SD



- Diethyl 1,4-bis(ethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate (24.8g, 68.8mmol) was suspended in ethanol (200ml) and treated with sodium hydroxide (8.3g, 206.4mmol) dissolved in 200ml of water. A further 50ml of ethanol added to aid stirring. Heated to reflux, 100°C. All in solution on heating. Refluxed for 8 hours. Cooled to room temperature and stood overnight. Solvent was evaporated to almost dryness. Water was added and stirred in an ice bath. Acidified with 2M HCl solution (~150ml). The white precipitate was filtered,
- 10 washed with water and dried in a vacuum oven to give the title compound as a white solid (18.77g, 61.7mmol).

LC/MS: Rt = 2.34, [MH]⁺ 305

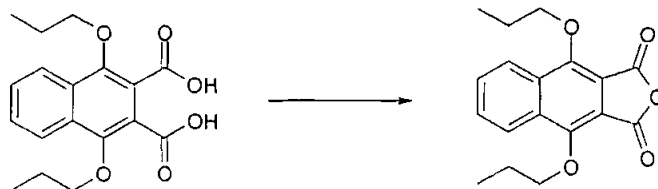
- 15 The following compound was prepared in a similar manner to 1,4-bis(propoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid using the appropriate starting materials.

	Name	LC/MS
	1,4-Bis(1-methylethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid	Rt=2.50 [MH] ⁻ 331

Description 3a

- 20 4,9-Bis(propoxy)naphtho[2,3-c]furan-1,3-dione

51

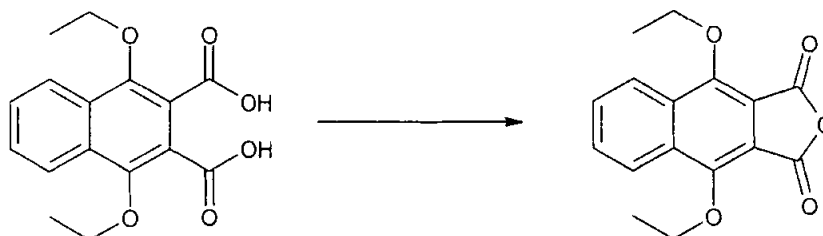


1,4-Bis(propoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid (8.91g, 26.8mmol) was suspended in chloroform (80ml) and thionyl chloride (20.5ml, 281.4mmol) was added dropwise whilst monitoring the temperature (no significant change). The reaction was heated at 65°C for 2.5 hours. The reaction mixture was cooled to room temperature and concentrated in vacuo. The yellow/brown solid was azeotroped with chloroform (x3) to afford the title compound as a beige solid (8.74g, 27.8mmol).

LC/MS: Rt=3.77, [MH]⁺ 315

Description 3b

4,9-Bis(ethoxy)naphtho[2,3-c]furan-1,3-dione

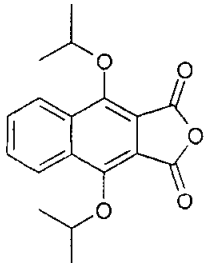


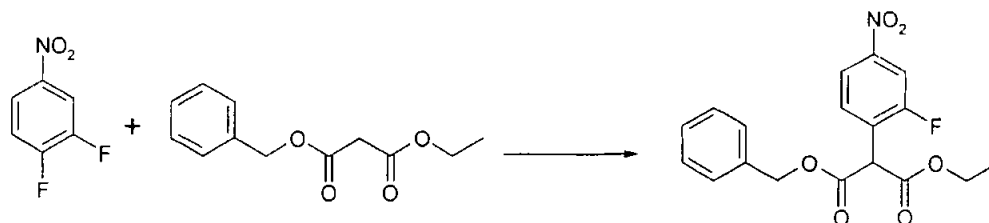
1,4-Bis(ethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid (10.3g, 33.8mmol) was added to a three neck flask and chloroform (80ml) added and stirred. Thionyl chloride (49.2ml, 355.4mmol) in a dropping funnel was added dropwise over 25 minutes whilst monitoring temperature (no change). The reaction was heated at reflux (65°C) overnight. LC/MS indicated no starting material remained. Reaction mixture was cooled to room temperature and solvent evaporated. The product was azeotroped with chloroform (x2) to remove the remaining traces of thionyl chloride to give the title compound as a pale yellow solid (9.86g).

32

LC/MS: Rt = 3.48, [MH]⁺ 287

The following compound was prepared in a similar manner to 4,9-bis(propyloxy)naphtho[2,3-c]furan-1,3-dione using the appropriate starting materials.

	Name	LC/MS
	4,9-Bis(1-methylethoxy)naphtho[2,3-c]furan-1,3-dione	Rt=3.6 [MH] ⁺ 315

Description 4*Ethyl phenylmethyl (2-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate*

10

Benzyl ethyl malonate (2.9g, 12.6mmol) in dry DMF (20ml) was cooled in an ice bath and the temperature monitored whilst sodium hydride (504mg, 12.6mmol) was added portionwise. This was stirred at room temperature for 10 minutes until H₂ evolution ceased. 3,4-Difluoronitrobenzene (2g, 12.6mmol) was added under an argon atmosphere and gave a dark red colour change. The reaction mixture was heated at 100°C for 20 hours under argon. Thin layer chromatography (20% ethyl acetate in hexane) showed completion of the reaction. The reaction mixture was cooled to room temperature and partitioned between 2N Hydrochloric acid (75ml) and ethyl acetate (75ml). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x 75ml) and the combined organic fractions were evaporated to a yellow oil. Purification by chromatography on

15

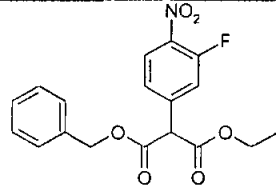
20

53

silica gel eluting with 0-20% ethyl acetate in hexane gave the title compound as a yellow oil (3.86g, 10.6mmol).

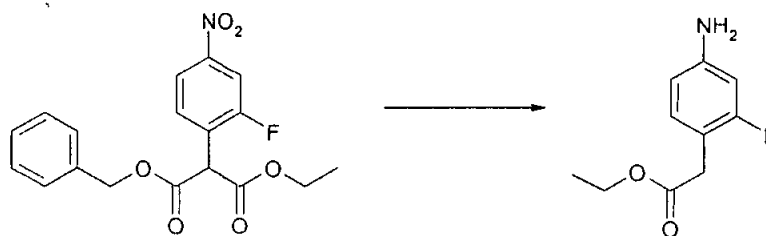
LC/MS: Rt=3.40, [MH]⁺ 362

The following compound was prepared in a similar manner to ethyl phenylmethyl (2-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate using the appropriate starting materials.

	Name	LC/MS
	<i>Ethyl phenylmethyl (3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate</i>	Rt=3.30 [MH] ⁺ 362

Description 5

Ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate



10

Ethyl phenylmethyl (2-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate (3.86g, 10.6mmol) dissolved in ethanol (50ml), was treated with ammonium formate (6.7g, 10.6mmol) under argon. Palladium on carbon 10% paste (380mg) was added and the reaction was stirred under reflux for 3 hours (60°C). The reaction was cooled to room temperature and the catalyst removed by filtration through celite. Solvent was removed to give a brown oil. The crude material was purified by chromatography on silica gel eluting with 0-50% ethyl acetate in hexane (1:1) over 45 minutes. Fractions were evaporated to give the title compound as a yellow oil (1.26g, 6.4mmol).

15

LC/MS: Rt=2.10, [MH]⁺ 198

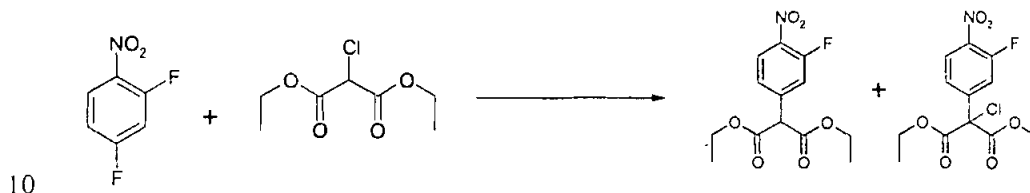
The following compound was prepared in a similar manner to ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate, using the appropriate starting materials.

5

	Name	LC/MS
	<i>Ethyl (4-amino-3-fluorophenyl)acetate</i>	Rt=2.20 [MH] ⁺ 198

Description 6

Diethyl chloro(3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate and Diethyl (3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate



2,4-Difluoronitrobenzene (31.5ml, 287mmol) and diethylchloromalonate (46.4ml, 287mmol) dissolved in dry DMF (300ml) was cooled in an ice bath. Crushed sodium hydroxide was added portionwise over 20 minutes. Reaction mixture was stirred at room temperature overnight. Reaction again cooled in an ice bath and acidified with 2N HCl (~400ml). Extracted with ethyl acetate (2x400ml, 1x200ml), organics washed with water and dried over MgSO₄. Evaporated to give an orange oil (~89g). Material was loaded onto 1.5Kg Si cartridge and purified on CombiFlash[®] Companion[™] XL eluting 0-20% ethyl acetate in hexane over 10 column volumes. Fractions were evaporated to yield diethyl chloro(3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate as a yellow oil (9.09g), diethyl (3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate as a yellow oil (24.7g,) and a mixture of the 2 as a yellow oil which crystallised on standing (1.7g,).

15

20

Diethyl chloro(3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate

LCMS rt=3.18;

¹H NMR (CDCl₃) δ ppm: 1.32 (6H, t, J=7.8Hz), 4.35 (4H, m), 7.64 (1H, dd, J=11.9, 2.1Hz), 7.56 (1H, ddd, J=8.9, 2.1, 1.1Hz), 8.08 (1H, dd, J=8.7, 7.6Hz).

5

Diethyl (3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate

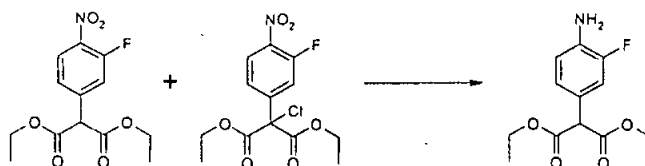
LCMS rt=2.96, MH⁺=300;

¹H NMR (CDCl₃) δ ppm: 1.29 (6H, t, J=7.1Hz), 4.25 (4H, m), 4.67 (1H, s), 7.45 (1H, dd, J=11.5, 1.8Hz), 7.35 (1H, ddd, J=8.6, 1.5, 0.8Hz), 8.06 (1H, dd, J=8.4, 7.9Hz).

10

Description 7

Diethyl (4-amino-3-fluorophenyl)propanedioate



15

A mixture of diethyl chloro(3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate and diethyl (3-fluoro-4-nitrophenyl)propanedioate (1.7g, ~5.7mmol) suspended in ethanol was treated with 5-10ml ethyl acetate until in solution. This was treated with 10% Pd/C (wet paste) (170mg) under argon and then ammonium formate (1.8g, 5eq) added. Stirred for 1 hour at reflux under argon. Cooled to room temperature and Pd removed by filtration through celite, under argon. Evaporated to a brown oil ~1.7g. Purified by flash chromatography, 40+TMM Si cartridge, eluting 5-40% ethyl acetate in hexane over 10 column volumes. Fraction evaporated to give the title compound as a yellow oil (722mg).

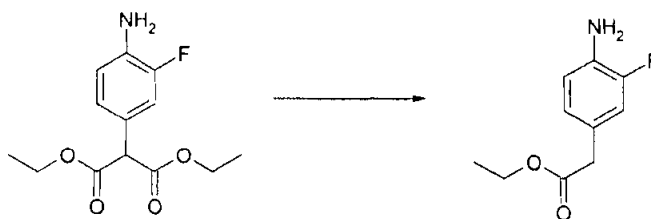
20

LCMS rt=2.65, MH⁺=270.

Description 8

Ethyl (4-amino-3-fluorophenyl)acetate

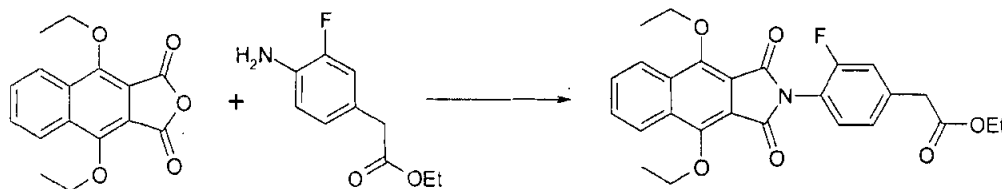
56



Diethyl (4-amino-3-fluorophenyl)propanedioate (11.85g, 44.1mmol) was dissolved in ethanol (80ml) and treated with NaOH (2.6g, 1.5eq) dissolved in 18ml of water to give a pink solution. This was heated to 90°C for 1 hour until complete. Heating continued for 1 further hour, and then cooled to room temperature. Solvent evaporated and acidified with 2N HCl. Extracted with ethyl acetate (3x 100ml). Organics washed with brine and dried over MgSO₄. Evaporated to give the title compound as a yellow oil which crystallised slowly on standing (6.6g).
LCMS rt=2.28, MH⁺=198.

Description 9

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate



4,9-Bis(ethyloxy)naphtho[2,3-c]furan-1,3-dione (0.100g, 0.35mmol) in acetic acid (5ml) was treated with DMAP (0.013g, 0.11mmol) then ethyl (4-amino-3-fluorophenyl)acetate (0.138g, 0.70mmol) and heated to reflux (120°C) under argon overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature and the solvent evaporated to afford a brown/orange oil which was diluted in DCM and washed with saturated NaHCO₃ and then 2N HCl. The organics were dried over MgSO₄ and evaporated to a brown oil which was purified by chromatography on silica gel eluting with ethyl acetate (0-20%) in hexane over 30 minutes. The

evaporated fractions were triturated with hexane to give the title compound as a solid (0.110g, 0.24mmol, 69%).

LC/MS: Rt=3.74, [MH]⁺ 466

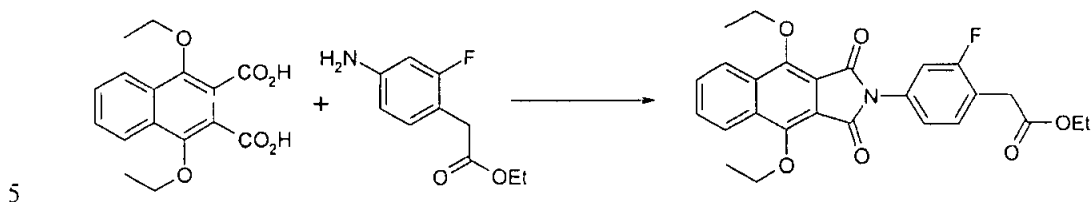
- 5 The following compounds were prepared in a similar manner to ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate, using the appropriate starting materials.

	Name	LC/MS
	<i>Ethyl {4-[1,3-dioxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate</i>	Rt=4.13 [MH] ⁺ 494
	<i>Ethyl {4-[1,3-dioxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate</i>	Rt=4.05 [MH] ⁺ 494
	<i>Ethyl {4-[4,9-bis(1-methylethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate</i>	Rt=4.01 [MH] ⁺ 494
	<i>Ethyl {4-[4,9-bis(1-methylethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate</i>	Rt=3.92 [MH] ⁺ 494

58

Description 10

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate



1,4-Bis(ethyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid

(18.77g, 61.7mmol) was added to ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate (13.38g, 67.9mmol) in acetic acid (190ml) and heated under reflux. LC/MS performed at

10 17 hours indicated that the reaction was incomplete. More ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate (4g, 20mmol) was added and heating was continued. After 3 hours further heating, further ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate (3g, 15mmol) was added and heating was continued. After a further 2 hours of

15 and heating continued for a further 6 hours. The reaction mixture was then cooled and the product crystallised out of solution. Diluted with water (200ml) and further precipitate formed. Filtered and the solid washed with further acetic acid (500ml) to remove as much colour as possible, then washed with water (500ml). The solid was dried in a vacuum oven overnight to give a light brown

20 solid (12.01g). The water solution was again filtered and the solid washed with further acetic acid and water, and dried to give a light brown solid (1.4g). The acid solution from above was again filtered and the solid washed with further acetic acid and water, and dried to give a light brown solid (6.12g). All the acid

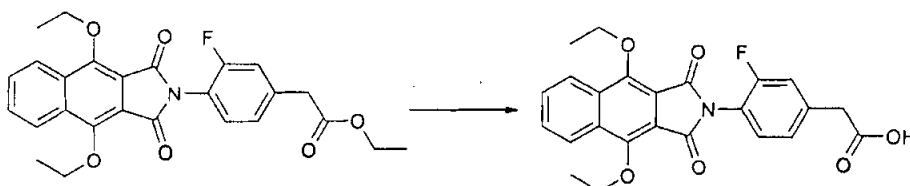
25 filtrates were concentrated *in vacuo* (~250ml) and cooled. The solid that crystallised was filtered, washed with further acetic acid (50ml), water, and dried to give a white solid (2.19g). Further solid crystallised in the filtrate which was filtered, washed with further acetic acid (50ml), water, and dried to give a brown solid (3.76g, ~60% purity = 2.27g product). Total yield of title compound 24g.

30 LC/MS: Rt=3.81, [MH]⁺ 466

Example 1

{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid

5



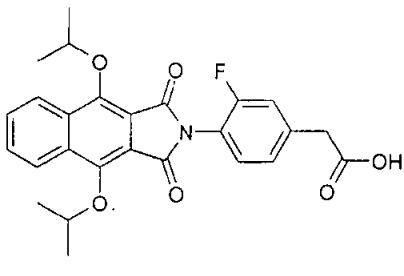
Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate (0.050g, 0.11mmol) was dissolved in glacial acetic acid (2ml) and 2N hydrochloric acid (2ml) added which caused precipitation. The reaction mixture was heated to 100°C under argon (the precipitate went back into solution) for 2 hours. The reaction mixture was cooled to room temperature and water added with stirring for 5 minutes. A solid precipitate formed which was filtered, washed with water, and collected to give the title compound as a yellow solid. The product was dried overnight in a vacuum oven (0.024g, 0.05mmol).

LC/MS: Rt=3.27, [MH]⁺ 438

The following compounds were prepared in a similar manner to {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid using the appropriate starting materials.

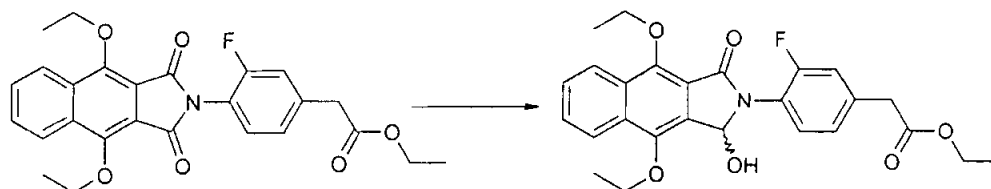
20

Example		Name	LC/MS
Example 2		{4-[1,3-Dioxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid	Rt=3.63 [MH] ⁺ 466

Example 3		(4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl)acetic acid	Rt=3.41 [MH] ⁺ 466
------------------	---	--	-------------------------------------

Description 11

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate



Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate (0.112g, 0.24mmol) was suspended in methanol (2ml) and tetrahydrofuran (3ml) added to dissolve the reactant. The reaction mixture was cooled to 0°C in an ice bath and sodium borohydride (0.027g, 0.72mmol) added portionwise. Stirred under argon for 2-3 hours at 0°C. Further sodium borohydride was added to the reaction to push it to completion. The reaction mixture was evaporated to a solid and partitioned between EtOAc and ammonium chloride (saturated). The aqueous layer was extracted with EtOAc (x2) and the combined organics washed with brine and dried over MgSO₄. Solvent was evaporated to give the title product as a gummy residue, which was triturated with hexane to afford a solid (0.111g, 0.23mmol).

LC/MS: Rt=3.29, [MH]⁺ 468

The following compounds were prepared in a similar manner to ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate using the appropriate starting materials.

5

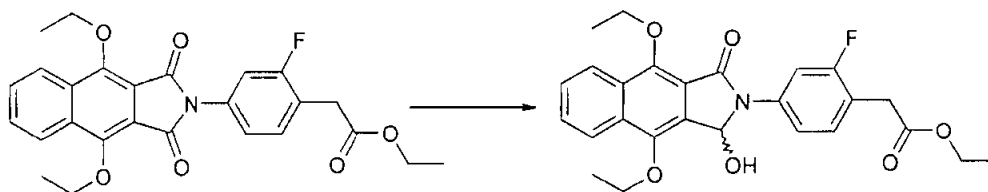
	Name	LC/MS
	<i>Ethyl {2-fluoro-4-[1-hydroxy-3-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetate</i>	Rt=3.84 [MH] ⁺ 496
	<i>Ethyl (2-fluoro-4-{1-hydroxy-4,9-bis(1-methylethoxy)-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}phenyl)acetate</i>	Rt=3.68 [MH] ⁺ 496
	<i>Ethyl {3-fluoro-4-[1-hydroxy-3-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetate</i>	Rt=3.64 [MH] ⁺ 496
	<i>Ethyl (3-fluoro-4-{1-hydroxy-4,9-bis(1-methylethoxy)-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}phenyl)acetate</i>	Rt=3.52 [MH] ⁺ 496

Description 12

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate

10

62



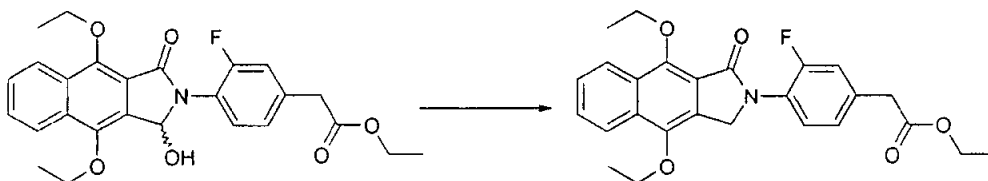
Ethyl {4-[4,9-bis(ethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (24g, 51.6mmol) was suspended in methanol (75ml) and tetrahydrofuran (200ml) and cooled to 5°C in an ice bath. Some solid did not go
5 into solution. Sodium borohydride (2g, 51.6mmol) was added portionwise over 2 minutes (effervescence). Undissolved solid slowly went into solution and the colour lightened from dark brown to light brown. LC/MS after 5 minutes and 30 minutes indicated that the reaction had not proceeded to completion. Therefore,
10 after 30 minutes, more sodium borohydride (1g, 26.3mmol) was added in one portion (effervescence). LC/MS after a further 30 minutes showed no starting material remaining. The mixture was concentrated in vacuo to give a brown oil that was partitioned between ethyl acetate (300ml) and water (500ml). The aqueous layer was further extracted with ethyl acetate (2x100ml). Combined
15 organics were washed with brine, dried over magnesium sulphate and concentrated to give the title compound as a brown solid (26g).

LC/MS: Rt=3.47, [MH]⁺ 468.

20

Description 13

Ethyl {4-[4,9-bis(ethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate



25



Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate (0.111g, 0.24mmol) was dissolved in trifluoroacetic acid (5ml) [instant orange solution] and cooled in an ice bath to 0°C. Treated drop wise with triethylsilane (0.06ml, 0.36mmol) and stirred at 0°C under argon. The reaction was complete after 30 – 60 minutes. Trifluoroacetic acid was evaporated to afford a yellow oil which was purified directly by chromatography on silica gel eluting with ethyl acetate (0-20%) in hexane over 30 minutes. Fractions were evaporated to a colourless gum, which on trituration with hexane gave a white solid (0.072g, 0.16mmol).

10

LC/MS: Rt=3.65, [MH]⁺ 452.

The following compounds were prepared in a similar manner to ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetate using the appropriate starting materials.

15

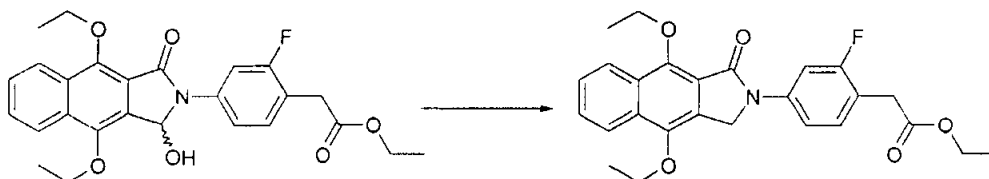
	Name	LC/MS
	<i>Ethyl {2-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetate</i>	Rt=4.10 [MH] ⁺ 480
	<i>Ethyl (4-{4,9-bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-2-fluorophenyl)acetate</i>	Rt=4.10 [MH] ⁺ 480
	<i>Ethyl {3-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetate</i>	Rt=3.99 [MH] ⁺ 480

	<i>Ethyl (4-{4,9-bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl)acetate</i>	<i>Rt=3.87 [MH]⁺ 480</i>
--	---	---

Description 14

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate

5



Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (approx. 51.6mmol) was dissolved in CH₂Cl₂ (50ml) and cooled to 0°C and TFA (50ml) added. Triethylsilane (12.3ml, 77mmol) was added in one portion to give a brown solution. The solution was concentrated in vacuo to give a tan solid. This was recrystallised from hot isopropanol (550ml), cooled, filtered, washed with isopropanol, and dried in a vacuum oven to give the title compound as off white crystals (20.2g).

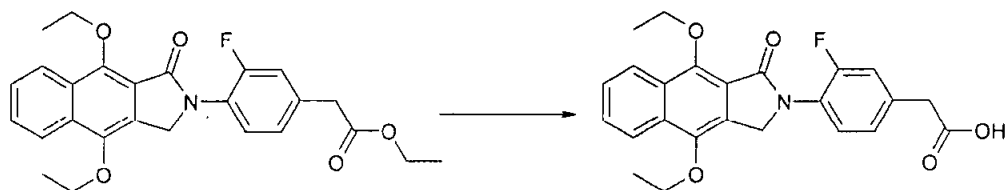
15

LC/MS: *Rt*=3.89, [MH]⁺ 452

Example 4

{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid

20



Ethyl 4-[4,9-bis(ethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-
 fluorophenyl]acetate (0.072g, 0.16mmol) was suspended in ethanol (2ml) and
 5 treated with 2N sodium hydroxide (6ml). Heated to reflux at 100°C under argon
 for 1 hour. The reaction was shown to be complete by LC/MS. The reaction
 mixture was cooled and the solvent evaporated to dryness. Water and 2N HCl
 was added to acidify. This was extracted with ethyl acetate (x2), dried over
 magnesium sulphate and evaporated to a solid which was dried overnight in a
 10 vacuum oven to give the title compound (0.038g, 0.09mmol).

LC/MS: Rt=3.14, [MH]⁺ 424

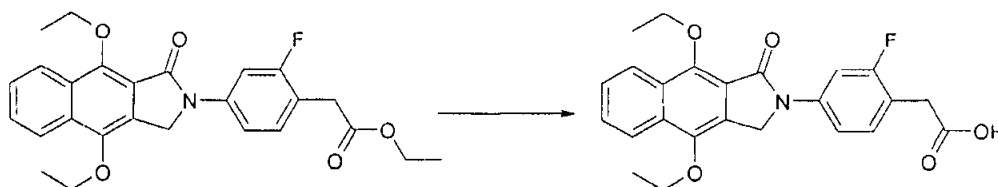
The following compounds were prepared in a similar manner to 4-[4,9-
 15 bis(ethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl]acetic
 acid, using the appropriate starting materials.

Example		Name	LC/MS
Example 5		{2-Fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetic acid	Rt=3.75 [MH] ⁺ 452
Example 6		(4-[4,9-Bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl)acetic acid	Rt=3.60 [MH] ⁺ 452

Example 7		<i>{3-Fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetic acid</i>	Rt=3.52 [MH] ⁺ 452
Example 8		<i>(4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl)acetic acid</i>	Rt=3.36 [MH] ⁺ 452

Example 9

5 *{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid*



10 Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (20.2g, 44.8mmol) was suspended in ethanol (450ml) and treated with 2N sodium hydroxide (150ml). The mixture was heated under reflux for 1 hour then cooled, and concentrated in vacuo to ~200ml, then acidified with 2N hydrochloric acid. The white solid was collected by filtration, washed with water (500ml) and dried in a vacuum oven to yield the title compound as a cream solid (18.45g, 43.6mmol).

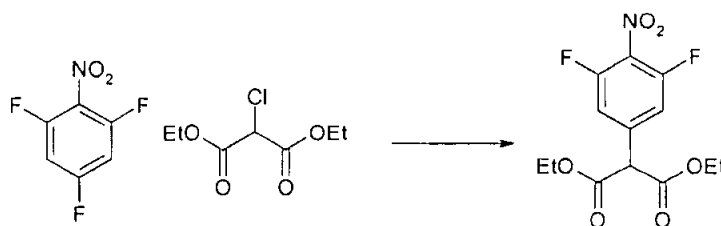
LC/MS: Rt=3.35, [MH]⁺ 424

1H-NMR (DMSO) δ12.49 (1H, br, s), δ8.32 (1H, d, J=8Hz), δ8.19 (1H, d, J=8Hz),
20 δ7.96 (1H, dd, J=13, 2Hz), δ7.74 (1H, dd, J=9, 2Hz), δ7.71 (1H, t, 8Hz), δ7.64

(1H, t, 8Hz), δ 7.41 (1H, t, 9Hz), δ 5.19 (2H, s), δ 4.39 (2H, q, J=7Hz), δ 4.32 (2H, q, 7Hz), δ 3.63 (2H, s), δ 1.48 (3H, t, J=7Hz), δ 1.46 (3H, t, J=7Hz).

Description 15

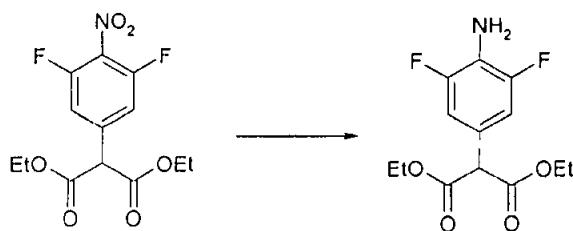
5 *Diethyl (3,5-difluoro-4-nitrophenyl)propanedioate*



To a solution of 1,3-nitrobenzene (3.0g, 16.95mmol) and diethyl chloropropanedioate (3.3g, 16.95mmol) in DMF (20ml) cooled in an ice bath was added crushed sodium hydroxide (1.36g, 33.90mmol) in portions. This resulted in a bright red solution. The reaction was stirred at room temperature overnight. This was then acidified with 2N HCl (50ml) and extracted x2 with ethyl acetate (100ml). The combined organics were washed with brine (100ml), dried over magnesium sulphate, filtered and evaporated. The residue was purified by chromatography eluting with 5-40% ethyl acetate in hexane. The cleanest fractions were evaporated to give the title compound as a yellow solid (2.08g, 6.56mmol). LC/MS: R_t =3.06, $[MH]^+$ 318.

Description 16

20 *Diethyl (4-amino-3,5-difluorophenyl)propanedioate*

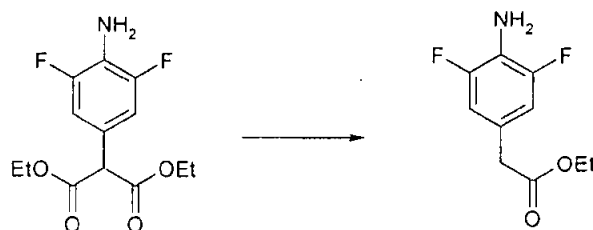


Diethyl (3,5-difluoro-4-nitrophenyl)propanedioate (2.08g, 6.56mmol) was added to ethanol (100ml). 10% Palladium on carbon (wet paste) (0.208g) was then

added under a flow of argon. This was treated with ammonium formate (2.07g, 32.80mmol) and the reaction heated to reflux for 30minutes. Once cooled to room temperature the mixture was filtered through celite and washed with ethanol. This was evaporated to a brown oily solid. Triturating in DCM removed insoluble impurities. The liquors were evaporated and then purified by chromatography eluting with 5-40% ethyl acetate in hexane. The clean fractions were evaporated to give the title compound as a pale brown oil (0.774g, 2.70mmol). LC/MS: Rt=2.69, [MH]⁺ 288.

10 Description 17

Ethyl (4-amino-3,5-difluorophenyl)acetate



15

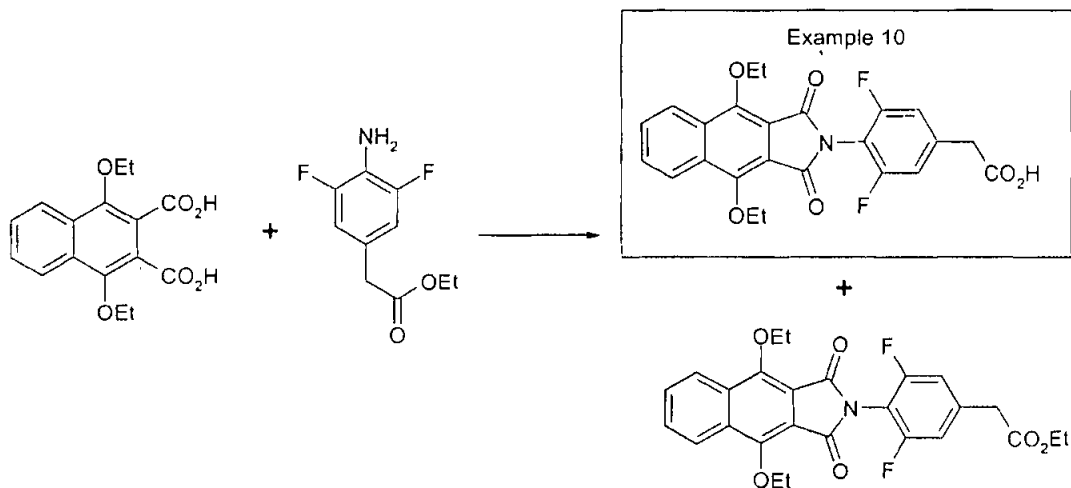
Diethyl (4-amino-3,5-difluorophenyl)propanedioate (0.770g, 2.68mmol) was dissolved in ethanol (50ml) and treated with sodium hydroxide (0.107g, 2.68mmol) in water (1.5ml). This was heated to 90°C for 55 minutes. Further sodium hydroxide (0.016g, 0.40mmol) was added to the reaction and heating continued for 15 minutes. The mixture was cooled to room temperature and evaporated. This was acidified with 2N HCl (20ml) and extracted x2 with ethyl acetate (25ml). The combined organics were washed with brine (50ml), dried over magnesium sulphate, filtered and evaporated to give the title compound as a pale brown oil (0.610mg, 2.84mmol, >100%). LC/MS: Rt=2.52, [MH]⁺ 216.

25

Example 10

{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid and ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate

5



To a solution of 1,4-bis(ethyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid* (0.389g, 1.28mmol) in acetic acid (5ml), was added ethyl (4-amino-3,5-difluorophenyl)acetate (0.55g, 2.56mmol) and DMAP (0.047g, 0.38mmol). The reaction was heated to 120°C for two days. Water (15ml) was added to the mixture and the resulting cream solid was collected by filtration and washed with water. This was dried in the vacuum oven. The crude mixture was purified using reverse phase chromatography.

15

The most polar fractions were combined to give two batches of the acid, Example 10, {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid (0.131g, 0.29mmol) LC/MS: Rt=3.30, [MH]⁺ 456 and (0.05g, 0.11mmol) LC/MS: Rt=3.30, [MH]⁺ 456.

20

Less polar fractions were combined as a mixture of the acid and ethyl ester. These were evaporated and purified further using normal phase chromatography eluting with 7-60% ethyl acetate in hexane. The fractions were evaporated to



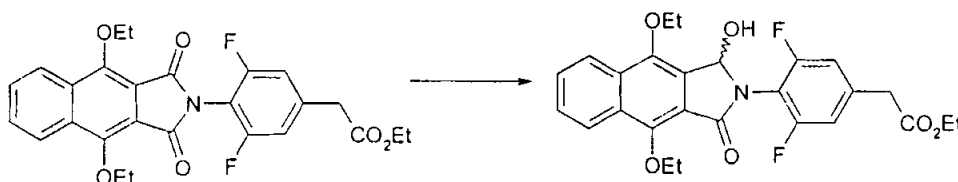
give two batches of the ethyl ester as a pale yellow solid, ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate (0.172g, 0.36mmol) LC/MS: Rt=3.90, [MH]⁺ 484 and (0.072g, 0.15mmol) LC/MS: Rt=3.72, [MH]⁺ 484.

5

* 1,4-bis(ethyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid may be prepared in accordance with the method disclosed in International Patent Application, Publication Number WO02/064564.

10 Description 18

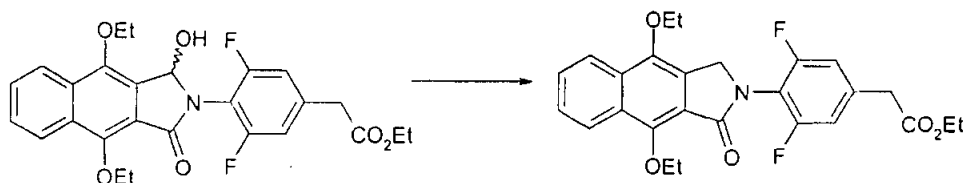
Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate



- 15 To a stirred solution of ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate (0.240g, 0.50mmol) in THF (10ml) and methanol (5ml) was added sodium borohydride (0.019g, 0.50mmol) slowly under an argon atmosphere. This was stirred at room temperature for 15 minutes, and then a further 0.057g (1.50mmol) of sodium borohydride was
- 20 added to drive the reaction to completion. After 1.5 hours the reaction was evaporated and quenched with an aqueous solution of ammonium chloride. This was extracted X2 with ethyl acetate (25ml) and the combined extracts washed with brine. The organics layer was then dried over magnesium sulphate, filtered and evaporated to give the title compound as a yellow oily solid (0.240g,
- 25 0.49mmol) LC/MS: Rt= 3.42 and 3.46, [MH]⁺ 486.

Description 19

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate

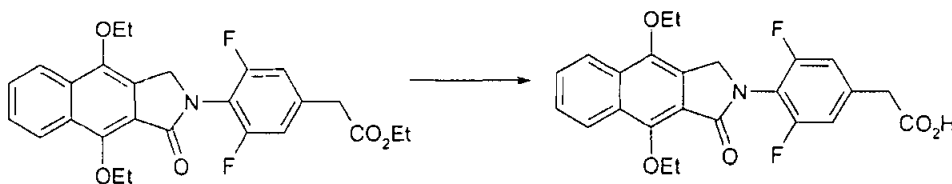


To a stirred solution of ethyl {4-[4,9-bis(ethoxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate (0.240g, 0.495mmol) in TFA (3ml) at 0°C was added triethylsilane (0.118ml, 0.742mmol) drop wise. The bright red solution turned light yellow on addition. The mixture was evaporated then purified by MDAP. The fractions were evaporated to give a yellow solid (0.049g, 0.10mmol) LC/MS: Rt= 3.62, [MH]⁺ 470.

10

Example 11

{4-[4,9-Bis(ethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid



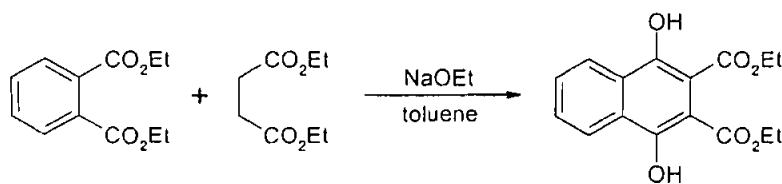
15

To ethyl {4-[4,9-bis(ethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetate (0.045g, 0.096mmol) was added acetic acid (3ml) and 2N hydrochloric acid (3ml). This was heated to 100°C for 1 hour. Heating was stopped and the reaction was cooled to room temperature, water added and the resulting yellow solid collected by filtration and dried in the vac oven. This was purified by MDAP (Shallow gradient). The clean fraction was evaporated down to give the title compound as a clear glass (0.018g, 0.04mmol) LC/MS: Rt= 3.16, [MH]⁺ 442.

25

{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid (Example 9) was also prepared according to the following procedures.

5

Step 1*Diethyl 1,4-dihydroxy-2,3-naphthalenedicarboxylate*

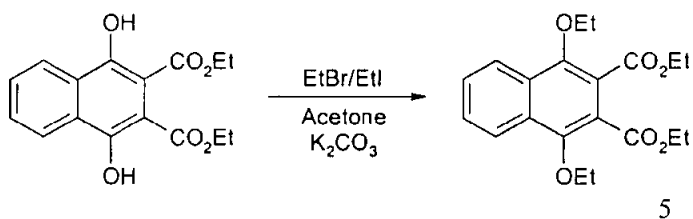
- 10 To a stirred suspension of sodium ethoxide (95%, 725 g, 10.2 mol) in toluene (7.2 L, azeotroped to remove water) was added diethyl phthalate (1513 mL, 7.6 mol) under a nitrogen atmosphere. The resulting suspension was heated to 70°C followed by the dropwise addition of diethyl succinate (800 mL, 5.07 mol) over a period of one hour. The reaction mixture was then stirred at 70°C under a
- 15 nitrogen atmosphere for 18 hours, with the consumption of diethyl succinate monitored by TLC analysis (silica, dichloromethane). The reaction mixture was cooled to 5°C, water (7.2 L) added dropwise and the suspension agitated for 5 minutes before stirring was stopped and the layers allowed to separate. The aqueous layer was collected and adjusted to pH 4.5 by dropwise addition of
- 20 concentrated hydrochloric acid (~600 mL) at 5°C*. The precipitated solid was isolated by filtration, washed with water (2 L) and freeze-dried to give the crude product as a yellow solid (520g, 34% yield).

*The aqueous mixture should be acidified as soon as feasible to avoid hydrolysis

25 of the desired product.

Step 2*Diethyl 1,4-bis(ethyloxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate*

A3

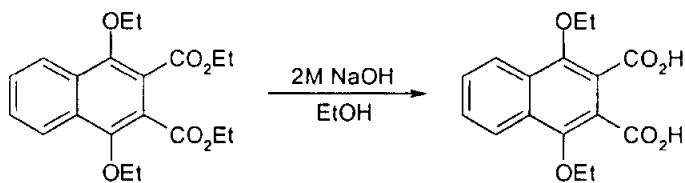


A suspension of potassium carbonate (1728 g, 12.5 mol) in acetone (11 L) was stirred at 40°C for two hours, then allowed to cool to 20°C. Diethyl 1,4-bis(ethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate (1087 g, 3.57 mol) and ethyl bromide* (800 mL, 10.7 mol) were added to the reaction mixture. This was followed by heating to reflux for 18 hours. ¹H-nmr spectroscopy indicated predominantly mono-alkylation so the reaction mixture was allowed to cool to ~30°C, ethyl iodide (470 mL, 5.88 mol) was added and then the mixture heated to reflux for a further 24 hours. The reaction mixture was cooled to room temperature, filtered and the inorganic solids washed with acetone (3 L). Removal of solvent from the combined filtrates under reduced pressure gave the desired product as a dark red solid (1343 g, quantitative yield).

*Ethyl iodide may also be used in this reaction and may be preferable on a large scale due to the low boiling point of ethyl bromide.

Step 3

1,4-Bis(ethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid

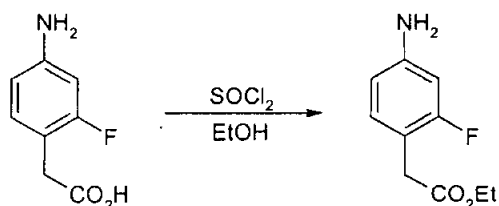


To a stirred solution of diethyl 1,4-bis(ethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylate (1343 g, 3.73 mol) in ethanol (5.5 L) was added 2M sodium hydroxide solution (5.5 L, 11.0 mol). The reaction mixture was heated to reflux for 8 hours, with the reaction progress monitored by ¹H-nmr spectroscopy. The mixture was then

5/11

cooled to 0°C for 18 hours before isolation of the crystallised solid by filtration, washing with ethanol (5 L) and drying in a vacuum oven at 60°C to constant mass gave the desired product as a white solid (903.7 g, ~11% water remains by Karl-Fischer, 62% yield).

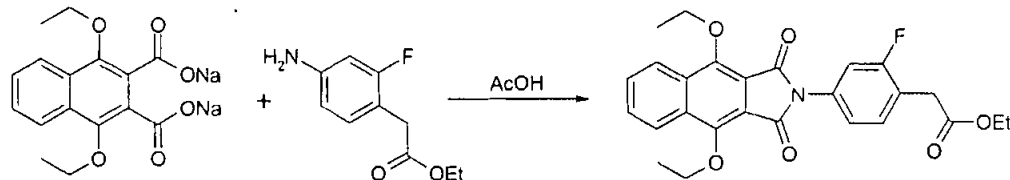
5

Step 4a*Ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate*

- 10 Thionyl chloride (986 mL, 8.51 mol) was added dropwise to a stirred suspension of 2-(4-amino-2-fluorophenyl)acetic acid (960 g, 5.68 mol) in ethanol (10 L) at 0°C under a nitrogen atmosphere. The reaction mixture was then heated to 40°C for 48 hours, with the reaction progress monitored by ¹H-nmr spectroscopy. The reaction mixture was evaporated to dryness and the residue redissolved in a
- 15 mixture of dichloromethane (8 L) and saturated sodium hydrogen carbonate solution (5 L). Further sodium hydrogen carbonate solution was added (~8 L) until the aqueous phase was basic. The layers were separated and the organic phase washed with saturated sodium hydrogen carbonate solution (4 L), dried over magnesium sulphate and the solvent removed under reduced pressure
- 20 gave the desired product, ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate, as an orange oil (1042 g, 93% yield), that may crystallise upon standing.

Step 4b*Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate*

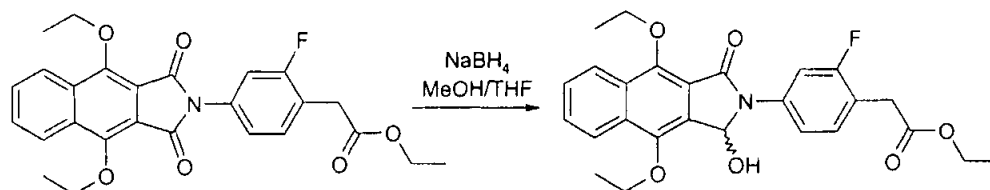
25



A mixture of 1,4-bis(ethoxy)-2,3-naphthalenedicarboxylic acid sodium salt (526 g, 1.51 mol) and ethyl (4-amino-2-fluorophenyl)acetate (539 g, 2.73 mol) in glacial acetic acid (5100 mL) was heated to reflux for 6 hours, with reaction progress monitored by ^1H -nmr spectroscopy. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature, stirred for 18 hours, diluted with water (14 L) and stirred for a further 30 minutes. The product was isolated by filtration, washed with water (5 L) and dried in a vacuum oven at 60°C to give the desired product as an off-white solid (587 g, 84% yield).

Step 5a

Ethyl {4-[4,9-bis(ethoxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate

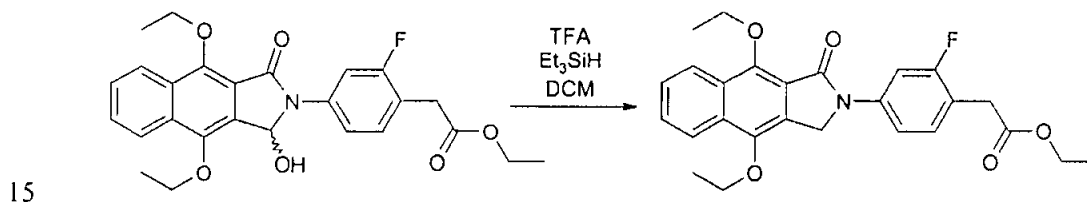


Sodium borohydride (45 g, 1.19 mol) was added portionwise over 45 minutes to a stirred suspension of ethyl {4-[4,9-bis(ethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (542 g, 1.16 mol) in a mixture of methanol (1.63 L) and tetrahydrofuran (4.34 L) at between -5 and 0°C under a nitrogen atmosphere. After stirring for a further 60 minutes at 0°C , additional portions of sodium borohydride (a total of 25 g, 0.66 mol) were added until no more starting material was observable by TLC analysis (silica, hexane:ethyl acetate, 70:30). At this point, the reaction mixture was quenched by dropwise addition of saturated ammonium chloride solution (~ 2700 mL) to $\sim \text{pH}9$. Ethyl

acetate (2 L) was added and the mixture agitated for 5 minutes. Stirring was stopped and the layers separated. The aqueous phase was extracted with a further portion of ethyl acetate (2 x 4 L). The combined organic phases were washed with brine (6 L), dried over magnesium sulphate and filtered. The material was combined with that from another batch processed in a similar manner and evaporated to dryness. The residue was redissolved in dichloromethane (5 L), dried with sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. This was slurried in isopropyl alcohol (2 L) and dried by dissolving in DCM (5 L) and evaporating to dryness three times to give the desired product as an off-white solid (929 g, 89% yield).

Step 5b

Ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate

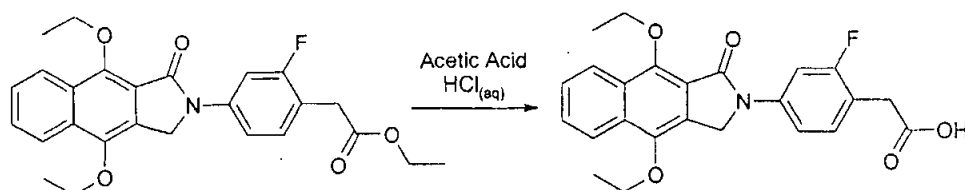


Trifluoroacetic acid (1900 mL) was added to a stirred solution of ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (898 g, 1.92 mol) in dichloromethane (1900 mL) at 0°C under a nitrogen atmosphere. Triethylsilane (465 mL, 2.92 mol) was added dropwise to the deep red solution ensuring that the temperature was maintained below 3°C. The reaction mixture was then stirred at 0°C for 45 minutes, over which time the solution turned yellow and all ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate was shown to be consumed by TLC analysis (silica, dichloromethane:methanol, 99:1). The reaction mixture was evaporated to dryness under reduced pressure, slurried in hexane (2 x 2.5 L) and then isopropanol (2.5 L) at 40°C and dried under vacuum to give the desired product as a white solid (821 g, 95% yield).

Step 6a

{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid

5



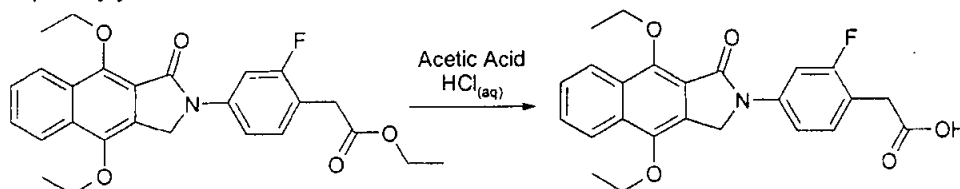
A suspension of ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (70.0 g, 155 mmol) in a mixture of glacial acetic acid (650 mL) and hydrochloric acid (6 M, 250 mL) was heated to reflux under a nitrogen atmosphere, with the reaction progress monitored by TLC analysis (silica, dichloromethane:methanol, 99:1). After 60 minutes the reaction mixture was cooled to 0°C. The precipitated solid was isolated by filtration, washed with water (500 mL), slurried in glacial acetic acid (350 mL) at 50°C and air dried to give the desired product, {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid, as an off-white solid (57.7 g, 88% yield).

During this reaction procedure all of the solid will dissolve, followed by the product precipitating from the reaction mixture after approximately 30 minutes. A small increase in the ratio of acetic acid to hydrochloric acid may be used to ensure that the reaction entities remain in solution throughout.

Step 6b

{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid

25



A suspension of ethyl {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetate (200.0 g, 443 mmol) in a mixture of glacial acetic acid (2080 mL) and hydrochloric acid (2 M, 700 mL) was heated to reflux under a nitrogen atmosphere, with the reaction progress monitored by TLC analysis
5 (silica, dichloromethane:methanol, 99:1). After 60 minutes the reaction mixture was cooled to 0°C. The precipitated solid was isolated by filtration, washed with water (1400 mL), and freeze-dried to give the desired product as an off-white solid (163.4 g, 87% yield).

The final product batch was obtained by an ethyl acetate slurry (3 L) of five
10 batches performed as above (total mass, 555 g) then freeze-drying and oven drying at 70°C to give the desired product, {4-[4,9-bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid, as an off-white solid (510.6 g, 82% yield for hydrolysis and slurry).

15

20

25



Biological data

***In vitro* cAMP assay**

Studies were performed using HEK-293(T) cells expressing the recombinant human prostanoid EP₄ receptor (HEK-EP₄ cells). Cells were grown as a monolayer culture in DMEM-F12/F12 containing glutamax II (Gibco) and supplemented with 10% foetal bovine serum (Gibco) and 0.4mg.ml⁻¹ G418. HEK-EP₄ cells were pre-treated 24hr and 30mins prior to the experiment with 10μM indomethacin and harvested using Versene containing 10μM indomethacin. The cells were resuspended in assay buffer (DMEM:F12, 10μM indomethacin and 200μM IBMX) at 1×10⁶ cells per ml and incubated for 20min at 37°C. Thereafter, 50μl of cells were added to 50μl agonist (compound of Formula (I)) and incubated at 37°C for 4 minutes before stopping reactions with 100μl of 1% triton X-100. cAMP levels in the cell lysates were determined using a competition binding assay. In this assay the ability of cell lysates to inhibit 3H-cAMP (Amersham) binding to the binding subunit of protein kinase A was measured and cAMP levels were calculated from a standard curve. The data for each compound were expressed as a % of the response to a 10nM maximal concentration of the standard agonist PGE₂. For each compound the maximal response and concentration of compound causing 50% of its maximal response were calculated. Intrinsic activity is expressed relative to the maximal response to PGE₂. Unless stated, reagents were purchased commercially from Sigma.

The Examples of the present invention were tested in the above-mentioned assay and exhibited average pEC₅₀ values of 6.8 or higher, and average intrinsic activities of 50% or higher. For example, Example 9 exhibited an average pEC₅₀ value of 7.4 and an average intrinsic activity of 68% when tested in the above-mentioned assay (n = 24).



***In vivo* assay - Effect of {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid ('Example 9') in an ED₂₀ combination and a fixed dose combination with paracetamol on FCA induced hypersensitivity in the rat**

5

Aim of study:

To determine whether combining Example 9 and paracetamol at ED₂₀ doses or as a fixed dose combination will produce synergy in the reversal of the established FCA induced hypersensitivity.

10

Methods:

FCA and weight-bearing readout

- At the start of the study, naïve weight bearing readings were taken. The hypersensitivity to pain was measured using the Rat incapacitance tester (Linton instruments).
- All male rats (RH strain, 180-220g) then received an intraplantar injection of 100ul of FCA (Freund's complete adjuvant) into the left hind paw. The FCA was sonicated for 15 minutes prior to use.
- 24 hours after administration of the FCA, pre-dose weight bearing readings were taken. All animals were then ranked and randomised for dosing according to their FCA window (*predose difference in grams – naïve difference in grams*). Rats with FCA window less than 30 were excluded from the study.
- Animals were then dosed orally according to ranking and randomisation. Two studies were carried out as follows:
- In the first study the ED₂₀ doses of Example 9 and paracetamol were combined using the following protocol,
 - (1) Vehicle (1% methylcellulose) p.o.
 - (2) Paracetamol (60 mg/kg) p.o.*
 - (3) Example 9 (0.1 mg/kg) p.o.*
 - (4) Example 9 (0.1 mg/kg) + Paracetamol (60 mg/kg) p.o.**
 - (5) Celecoxib (10 mg/kg) p.o.

30

*ED₂₀ dose

**Example 9 was dosed initially followed by paracetamol 30 minutes later.

- In the second study a fixed dose ratio combination with Example 9 and paracetamol was completed using the following protocol,
 - (1) Vehicle (1% methylcellulose) p.o. + Vehicle (1% methylcellulose) p.o.
 - (2) Example 9, 0.003 mg/kg p.o. + Paracetamol, 1.8 mg/kg p.o.
 - (3) Example 9, 0.01 mg/kg p.o. + Paracetamol, 6 mg/kg p.o.
 - (4) Example 9, 0.03 mg/kg p.o. + Paracetamol, 18 mg/kg p.o.
 - (5) Example 9, 0.1 mg/kg p.o. + Paracetamol, 60 mg/kg p.o.
 - (6) Vehicle (1% methylcellulose) p.o. + Celecoxib, 10 mg/kg p.o.
- Animals were assessed in the weight bearing apparatus 1 hour after the dose of paracetamol.
- The study was blind and randomised by FCA window using a Latin square method.

Preparation Details

- All compounds were ground using a pestle and mortar prior to adding the vehicle (1% methylcellulose). Dose volume 5ml/kg.
- All doses were sonicated and stirred before administration.
- In this study a positive control was also tested (Celecoxib). If the positive control did not produce a significant reversal of the FCA induced hypersensitivity (>60%) the experiment was deemed invalid and the study repeated.

Statistical Analysis

- % reversals were calculated by using the naïve, pre-dose and post dose values as follows: % Reversal = [(Pre-dose – Post-dose) / (Pre-dose – Naïve)] x100.
- Graphs and ED₅₀ values were calculated using Prism3.
- Statistical analysis was carried out using ANOVA and Fischer LSD test from statistical package Statistica 6.

42

- Synergy was statistically calculated using the synergy macro. The logED₅₀ values and the Standard errors for the individual molecules and the combination study are obtained from Statistica 6 and put into the macro. The fixed dose ratio is specified and the macro then calculates whether the combination was statistically synergistic. It compares the combination data to the theoretical addition of the individual compounds.

Results:**Percentage reversal of the established FCA-induced hypersensitivity:**

- Significant activity was demonstrated. Reversal of hypersensitivity equivalent to a maximally efficacious dose of celecoxib was produced with combinations of low doses of Example 9 and paracetamol which are ineffective when administered alone (Figure 1). The observed effect has been shown to be synergistic in nature (Figure 2).

- When dosed alone at 3mg/kg in the same model, Example 9 has an EC₅₀ of 0.6 µM and advantageously produced an 80% reversal of eFCA-induced hypersensitivity.

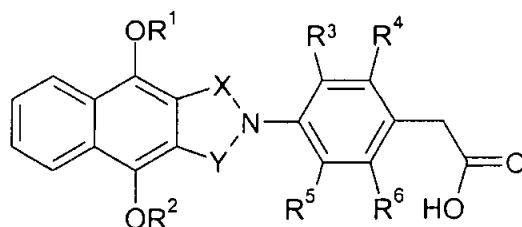
- Example 9 also exhibited an oral pharmacokinetic half life of 7.6 hours in the rat.

Figure 1 illustrates the effect of combining Example 9 (0.1 mg/kg) and paracetamol (60 mg/kg) alone and in combination on FCA-induced hypersensitivity.

- Figure 2 illustrates a theoretical additive dose response curve vs. actual observed dose response curve for an Example 9 + paracetamol combination.

Claims

1. A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof,



5

(I)

wherein,

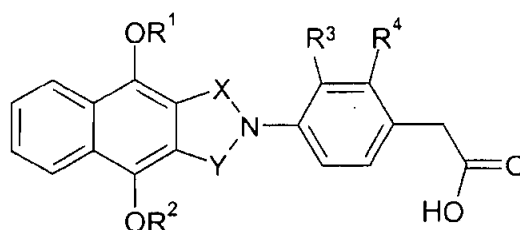
R^1 and R^2 independently represent C_{1-4} alkyl;

10 R^3 , R^4 , R^5 and R^6 independently represent H or F, provided that, at least one of R^3 and R^4 represents H, at least one of R^5 and R^6 represents H, and at least one of R^3 , R^4 , R^5 and R^6 represents F; and

X and Y independently represent CH_2 or $C=O$, provided that at least one of X and Y represents $C=O$.

- 15 2. A compound of formula (I), according to claim 1, wherein R^1 and R^2 are the same and represent C_{1-4} alkyl.
3. A compound of formula (I), according to claim 1, wherein R^1 and R^2 are independently selected from the group consisting of ethyl, n-propyl and
20 iso-propyl.
4. A compound of formula (I), according to any of claims 1 to 3, wherein both X and Y represent $C=O$.
- 25 5. A compound of formula (I), according to any preceding claim, wherein R^3 represents F and R^4 , R^5 and R^6 represent H.

6. A compound of formula (I), according to any one of claims 1 to 4, wherein R^4 represents F and R^3 , R^5 and R^6 represent H.
7. A compound of formula (I), according to any one of claims 1 to 4, wherein R^3 and R^5 represent F and R^4 and R^6 represent H.
8. A compound according to claim 1, of formula (IA), or a pharmaceutically acceptable derivative thereof,



(IA)

wherein,

R^1 and R^2 independently represent C_{1-4} alkyl;

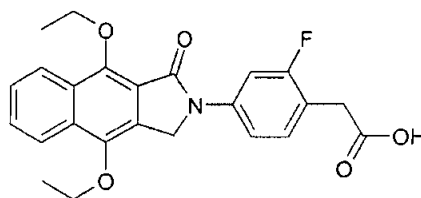
R^3 and R^4 independently represent H or F provided that they are not the same; and

X and Y independently represent CH_2 or $C=O$ provided that at least one of X and Y represents $C=O$.

9. A compound of formula (I), according to claim 1, selected from the group consisting of:
- {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid;
- {4-[1,3-Dioxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid;
- (4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl)acetic acid;
- {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3-fluorophenyl}acetic acid;

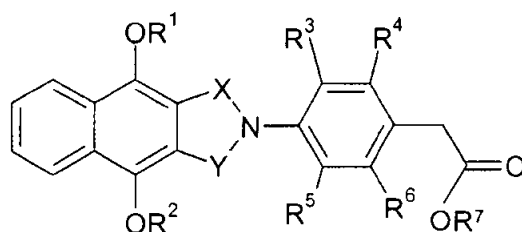
- {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid;
{2-Fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetic acid;
5 {4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-2-fluorophenyl}acetic acid;
{3-Fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propyloxy)-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]phenyl}acetic acid; and
{4-{4,9-Bis(1-methylethoxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl}-3-fluorophenyl}acetic acid;
10 {4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid;
{4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-3,5-difluorophenyl}acetic acid; or a pharmaceutically acceptable derivative
15 thereof.

10. ({4-[4,9-Bis(ethyloxy)-1-oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid,



- 20 or a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

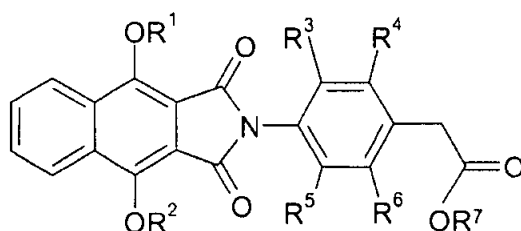
11. A process for preparing a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, according to claim 1, wherein, one of X and Y represents C=O and the other represents CH₂ and R¹, R², R³, R⁴, R⁵
25 and R⁶ are as defined in claim 1, which process comprises reacting a compound of formula (II),



(II)

wherein, one of X and Y represents C=O and the other represents CH₂; R¹, R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are as defined in relation to formula (I); and R⁷ represents C₁₋₆ alkyl; with a suitable base, and optionally thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

12. A process for preparing a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, according to claim 1, wherein X and Y represent C=O and R¹, R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are as defined in claim 1, which process comprises adding a compound of formula (III),

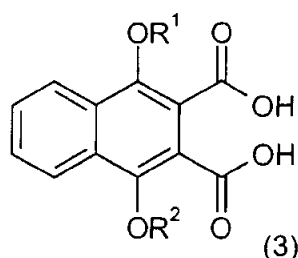


(III)

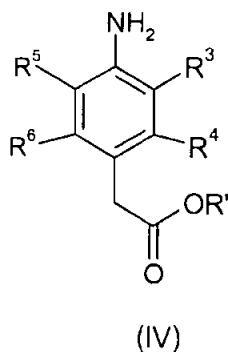
wherein, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are as defined in claim 1; and R⁷ represents C₁₋₆ alkyl; to a suitable acid or mixture of acids, and optionally thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of

the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

- 5 13. A process for preparing a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, according to claim 1, which process comprises reacting a compound of formula (3),

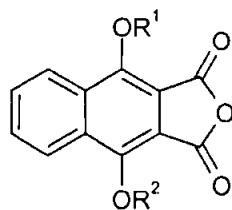


10 with a compound of formula (IV),



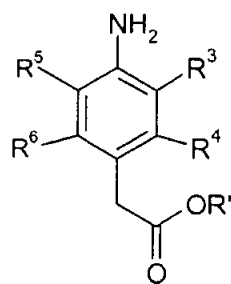
- 15 wherein R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are as defined in claim 1, and R' represents H or C_{1-6} alkyl, and optionally thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

- 20 14. A process for preparing a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, according to claim 1, which process comprises reacting a compound of formula (4),



(4)

with a compound of formula (IV),



(IV)

5

wherein R¹, R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are as defined in claim 1, and R' represents H or C₁₋₆ alkyl, and optionally thereafter forming a pharmaceutically acceptable derivative of the compound so formed, and/or converting one compound of formula (I) to another.

10

15. A compound of formula (I), according to claim 1, for use in human or veterinary medicine.

16. A compound of formula (I), according to claim 1, for use in the treatment of a condition which is mediated by the action, or loss of action, of PGE₂ at EP₄ receptors.

15

17. A method of treating a human or animal subject suffering from a condition which is mediated by the action, or by loss of action, of PGE₂ at EP₄ receptors which comprises administering to said subject an effective amount of a compound of formula (I), according to claim 1.

20

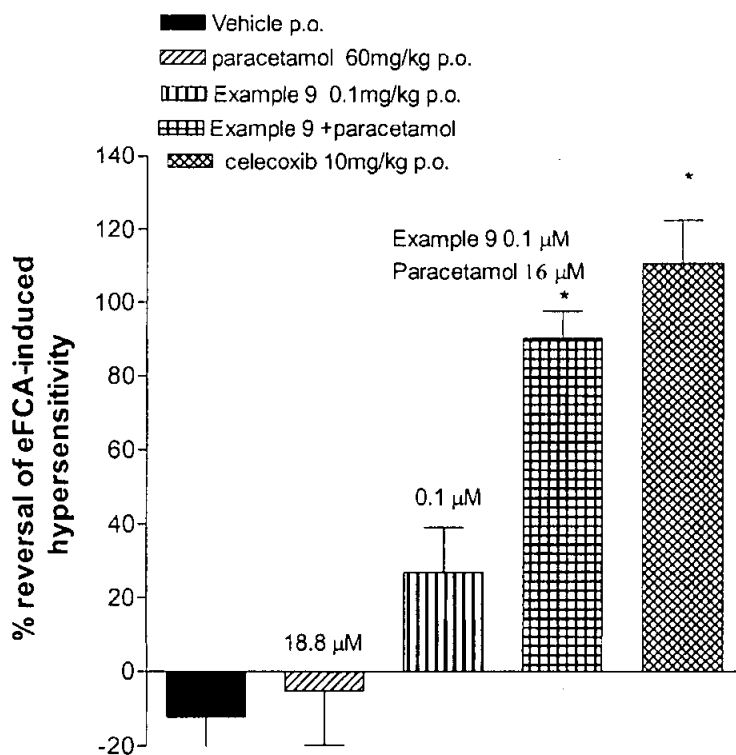


18. Use of a compound of formula (I), according to claim 1, for the
manufacture of a medicament for the treatment of a condition which is
mediated by the action of PGE₂ at EP₄ receptors.
- 5
19. A pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I) or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof according to claim 1 and a
pharmaceutically acceptable carrier or diluent therefor.
- 10
20. A pharmaceutical composition according to claim 17, comprising one or
more additional therapeutic agents.
21. A combination comprising an EP₄ receptor agonist or a pharmaceutically
acceptable derivative thereof and paracetamol.
- 15
22. A combination comprising a compound of formula (I) or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof according to claim 1 and
paracetamol.
- 20
23. A combination according to claim 20 comprising {4-[4,9-Bis(ethoxy)-1-
oxo-1,3-dihydro-2H-benzo[f]isoindol-2-yl]-2-fluorophenyl}acetic acid or a
pharmaceutically acceptable derivative thereof and paracetamol.
- 25
- 30

40

1/2

Figure 1 - The effect of combining Example 9 (0.1 mg/kg) and paracetamol (60 mg/kg) alone and in combination on FCA-induced hypersensitivity.

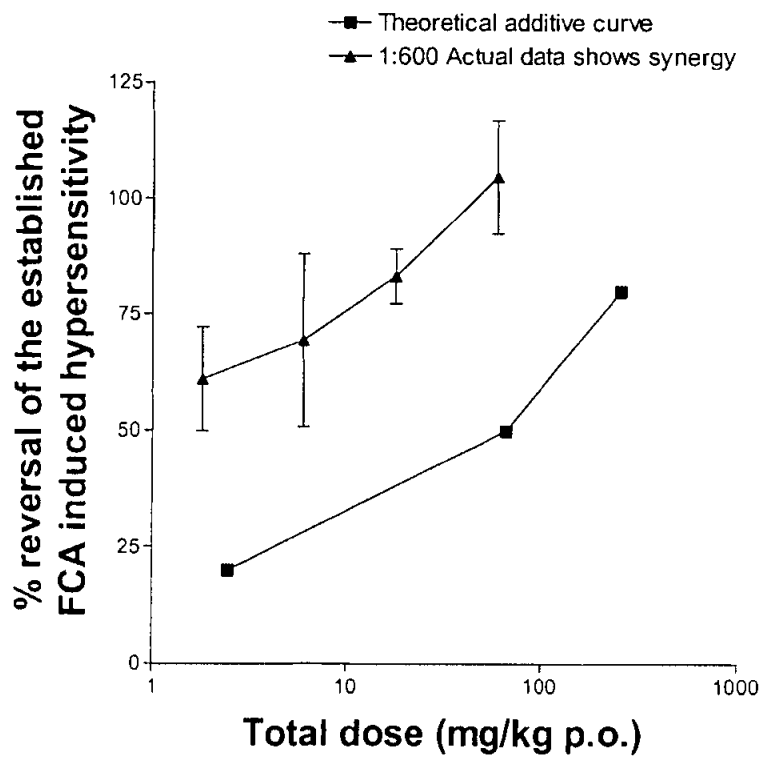


Data are represented as mean $\pm$ SEM (n=7 per group), and analysed by ANOVA followed by a Fisher LSD test, where drug treated groups were compared with vehicle, and for the combination group, compared with drug alone treated groups. * indicates $P < 0.05$. Terminal blood concentrations quoted.

M

2/2

Figure 2 – Theoretical additive dose response curve vs. actual observed dose response curve for Example 9 + paracetamol combination



Derivados de ácido benzo (F) isoindol-2-ilfenil acético como agonistas de EP₄

Esta invención se refiere a derivados de naftaleno, a procedimientos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso en medicina.

5 Los compuestos de la presente invención son agonistas del receptor EP₄.

Una serie de artículos de revisión describen la caracterización y la relevancia terapéutica de los receptores de prostanoïdes así como los agonistas y antagonistas selectivos usados más comúnmente: *Eicosanoids; From Biotechnology to Therapeutic Applications*, Folco, Samuelsson, Maclouf, and Velo eds, Plenum Press, New York, 10 1996, chap. 14, 137-154 y *Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling*, 1996, 14, 83-87 y *Prostanoids Receptors, Structure, Properties and Function*, S. Narumiya et al., *Physiological Reviews* 1999, 79(4), 1193-126.

El receptor EP₄ es un receptor de los siete dominios transmembranales y su ligando natural es la prostaglandina PGE₂. La PGE₂ también tiene afinidad por los otros 15 receptores EP (tipos EP₁, EP₂ y EP₃). El receptor de prostanoïdes EP₄ entra en un grupo de receptores normalmente asociados con la elevación de los niveles intracelulares de monofosfato de adenosina cíclica (cAMP). El receptor EP₄ se asocia con la relajación del músculo liso, la presión intraocular, el dolor (en particular el dolor inflamatorio, neuropático y visceral), la inflamación, neuroprotección, diferenciación de linfocitos, procesos óseos metabólicos, actividades alérgicas, ayuda al sueño, regulación 20 renal, secreción de mucosidad gástrica o entérica y secreción duodenal de bicarbonato. El receptor EP₄ desempeña un importante papel en el cierre del ductus arterioso, en la vasodepresión, inflamación y reestructuración ósea como se reseña por Narumiya en *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 2002, 68-69 557-73.

25 Una serie de publicaciones han demostrado que la PGE₂ actuando a través del subtipo de receptor EP₄, y los agonistas de EP₄ solos, puede regular las citocinas inflamatorias después de un estímulo inflamatorio. Takayama et al. en *Journal of Biological Chemistry* 2002, 277(46), 44147-54 demostraron que la PGE₂ modula la inflamación durante las enfermedades inflamatorias mediante la reducción de la producción 30 de quimiocinas derivadas de los macrófagos a través del receptor EP₄. En *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2002, 10(7), 2103-2110, Maruyama et al. demostraron que el agonista selectivo del receptor EP₄, (ONO-AE1-437) reduce el TNF- α inducido por LPS en la sangre humana completa mientras que aumenta los niveles de IL-10. Un artículo de *Anesthesiology*, 2002, 97, 170-176 da a entender que un agonista selectivo del 35 receptor EP₄, (ONO-AE1-329) inhibía de forma efectiva la hiperalgesia mecánica y térmica y las reacciones inflamatorias en la monoartritis aguda y crónica.

Dos artículos independientes de Sakuma *et al.* en *Journal of Bone and Mineral Research* 2000, 15(2), 218-227 y Miyaura *et al.* en *Journal of Biological Chemistry* 2000, 275(26), 19819-23, señalan la formación defectuosa de osteoclastos en células cultivadas procedentes de ratones desprovistos del receptor EP₄. Yoshida *et al.* en
5 *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002, 99(7), 4580-4585, mediante el uso de ratones que carecían de cada uno de los subtipos EP del receptor de la PGE₂, identificados como el receptor EP₄ que media en la formación del hueso en respuesta a la administración de PGE₂. Demostraron también que un agonista selectivo del receptor EP₄, (ONO-4819) induce de forma consis-
10 tente la formación de hueso en los ratones naturales. Adicionalmente, Terai *et al.* en *Bone* 2005, 37(4), 555-562 han demostrado que la presencia de un agonista selectivo del receptor EP₄, (ONO-4819) mejoraba la capacidad inductora de hueso de rhBMP-2, una citocina terapéutica que puede inducir la formación de hueso.

Una investigación adicional por Larsen *et al.* muestra los efectos de la PGE₂
15 sobre la secreción en la segunda parte del duodeno humano que es mediada por el receptor EP₄ (*Acta Physiol. Scand.* 2005, 185, 133-140). También, se ha demostrado que un agonista selectivo del receptor EP₄, (ONO-AE1-329) puede proteger frente a la colitis en ratas (Nitta *et al.* en *Scandinavian Journal of Immunology* 2002, 56(1), 66-75).

20 Doré *et al.* en *The European Journal of Neuroscience* 2005, 22(99), 2199-206 han demostrado que la PGE₂ puede proteger a las neuronas frente a la toxicidad del péptido beta-amiloide mediante la actuación sobre los receptores EP₂ y EP₄. Además Doré ha demostrado en *Brain Research* 2005, 1066(1-2), 71-77 que un agonista del receptor EP₄, (ONO-AE1-329) protege frente a la neurotoxicidad en un modelo agudo
25 de neurotoxicidad en el cerebro.

Woodward *et al.* en *Journal of Lipid Mediators* 1993, 6(1-3), 545-53 encontraron que se podía reducir la presión intraocular usando agonistas selectivos de los prostanoïdes. Dos informes de Investigative Ophthalmology & Visual Science han demostrado que el receptor de prostanoïdes EP₄ se expresa en las células epiteliales de las lentes
30 humanas (Mukhopadhyay *et al.* 1999, 40(1), 105-12), y sugieren un papel fisiológico del receptor de prostanoïdes EP₄ en la modulación del flujo en la red trabecular del ojo (Hoyng *et al.* 1999, 40(11), 2622-6).

Los compuestos que presentan actividad de unión con el receptor EP₄ y sus usos han sido descritos, por ejemplo, en los documentos WO98/55468, WO00/18744,
35 WO00/03980, WO00/15608, WO00/16760, WO00/21532, WO01/010426, EP0855389, EP0985663, WO02/047669, WO02/50031, WO02/50032, WO02/50033,

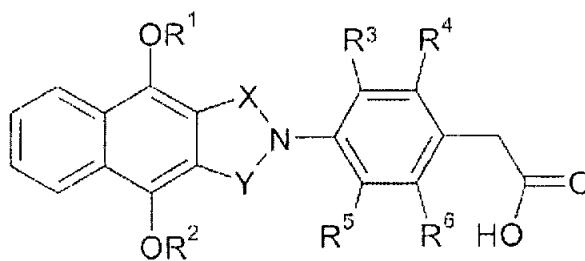
44

WO02/064564, WO03/103604, WO03/077910, WO03/086371, WO04/037813, WO04/067524, WO04/085430, US04/142969, WO05/021508, WO05/105733, WO05/105732, WO05/080367, WO05/037812, WO05/116010 y WO06/122403.

Los derivados de indoprofeno tales como la sal sódica del ácido [4-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il)fenil]-2-propiónico han sido descritos por Rufer *et al.* en *Eur. J. Med. Chem. – Chimica Therapeutica*, 1978, 13, 193.

Se ha demostrado que los compuestos de la presente invención presentan actividades ventajosas *in vivo* e *in vitro* cuando se analizan en los ensayos biológicos que se describen en esta memoria. Se ha demostrado también que ciertos compuestos de la invención presentan ventajosos perfiles farmacocinéticos en la rata.

La presente invención proporciona compuestos de la fórmula (I) y/o sus derivados farmacéuticamente aceptables,



(I)

en la que,

R¹ y R² representan independientemente alquilo C₁₋₄;

R³, R⁴, R⁵ y R⁶ representan independientemente H o F, con la condición de que, al menos uno de R³ y R⁴ representa H, al menos uno de R⁵ y R⁶ representa H, y al menos uno de R³, R⁴, R⁵ y R⁶ representa F; y

X e Y representan independientemente CH₂ o C=O, con la condición de que al menos uno de X e Y representa C=O.

En una realización de la invención, R¹ y R² son iguales y representan alquilo C₁₋₄. En otra realización de la invención, R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en etilo, *n*-propilo e *iso*-propilo.

En una realización de la invención, R³ representa H y R⁴ representa F. En otra realización de la invención, R³ representa F y R⁴ representa H.

En una realización de la invención, R⁵ representa H y R⁶ representa F. En otra realización de la invención, R⁵ representa F y R⁶ representa H.

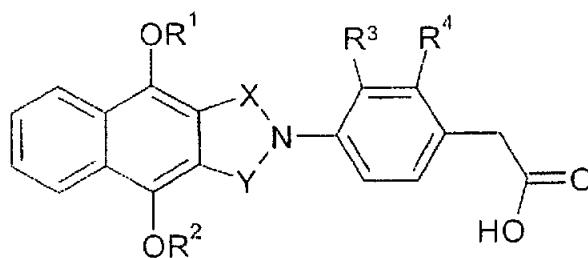
45

En una realización de la invención, R^3 representa F y R^4 , R^5 y R^6 representan H. En otra realización de la invención, R^4 representa F y R^3 , R^5 y R^6 representan H. En otra realización de la invención, R^5 representa F y R^3 , R^4 y R^6 representan H. En otra realización de la invención, R^6 representa F y R^3 , R^4 y R^5 representan H.

5 En una realización de la invención, R^3 y R^5 representan F y R^4 y R^6 representan H.

En una realización de la invención, X representa CH_2 e Y representa $C=O$. En otra realización de la invención, X representa $C=O$ e Y representa CH_2 . En otra realización de la invención, tanto X como Y representan $C=O$.

10 En una realización de la invención, se proporciona un subconjunto de compuestos de la fórmula (I) o de la fórmula (IA) y/o sus derivados farmacéuticamente aceptables,



(IA)

15 en la que,

R^1 y R^2 representan independientemente alquilo C_{1-4} ;

R^3 y R^4 representan independientemente H o F, con la condición de que no son iguales;

y

20 X e Y representan independientemente CH_2 o $C=O$, con la condición de que al menos uno de X e Y representa $C=O$.

En otra realización de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I) seleccionado del grupo que consiste en:

25 ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

ácido {4-[1,3-dioxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

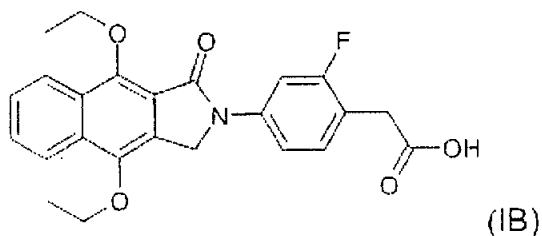
ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

ab

- ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;
- ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético;
- 5 ácido {2-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético;
- ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético;
- ácido {3-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético; y
- 10 ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;
- ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acético;
- 15 ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acético;
- y/o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

En otra realización de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I) que es ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético (IB),

20 nil}-acético (IB),



o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

La presente invención cubre todas las combinaciones de las realizaciones descritas en esta memoria.

- 25 Como se usa aquí, el término "alquilo C₁₋₄" incluye los grupos alquilo de cadena lineal y de cadena ramificada que contienen 1 a 4 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo e *iso*-butilo. El término "alquilo C₁₋₆" puede ser interpretado en consecuencia.

Como se usa aquí, F significa fluoro.

- 30 Por derivado farmacéuticamente aceptable se entiende cualquier sal, solvato o éster farmacéuticamente aceptable, o sal o solvato de dicho éster de los compuestos

de la fórmula (I), o cualquier otro compuesto que tras su administración al paciente es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus metabolitos o residuos activos. En una realización de la invención, un derivado farmacéuticamente aceptable significa una sal, solvato o éster, o sal o solvato de dicho éster. En otra realización de la invención, un derivado farmacéuticamente aceptable significa una sal o éster, o sal de dicho éster.

Se debe apreciar que para uso farmacéutico, las sales mencionadas anteriormente serán sales farmacéuticamente aceptables, pero se pueden usar también otras sales, por ejemplo en la preparación de compuestos de la fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las descritas por Berge, Bighley and Monkhouse, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales preparadas a partir de bases farmacéuticamente aceptables incluyendo bases orgánicas y bases inorgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen las sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, sales férricas, ferrosas, de litio, de magnesio, sales mangánicas, manganosas, de potasio, de sodio, de cinc, y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de aminas primarias, secundarias y terciarias; aminas sustituidas incluyendo las aminas sustituidas naturales; y aminas cíclicas. Las bases orgánicas farmacéuticamente aceptables particulares incluyen arginina, betaina, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etil-piperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, tris(hidroximetil)aminometano, y similares. Las sales se pueden formar también a partir de resinas de intercambio iónico básicas, por ejemplo resinas de poliamina.

En una realización de la invención, se proporciona la sal de sodio del ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético. En otra realización de la invención, se proporciona la sal de potasio del ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético. En otra realización de la invención, se proporciona la sal de colina del ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético.

Se debe apreciar que los compuestos de la fórmula (I) se pueden producir *in vivo* mediante metabolismo de un profármaco adecuado. Tales profármacos pueden ser por ejemplo ésteres de los compuestos de la fórmula (I) metabólicamente lábiles,

fisiológicamente aceptables. Estos se pueden formar por esterificación del grupo de ácido carboxílico en el compuesto original de la fórmula (I) con protección previa, cuando sea apropiado, de cualquier otro grupo reactivo presente en la molécula seguido por desprotección si fuera necesario. Ejemplos de tales ésteres metabólicamente

5 lábiles incluyen los ésteres de alquilo C₁₋₄, por ejemplo los ésteres de metilo, etilo o *t*-butilo, ésteres de alqueno C₃₋₆, por ejemplo los ésteres de aminoalquilo sin sustituir o sustituido con alilo (por ejemplo, ésteres de aminoetilo, 2-(N,N-dietilamino)etilo, o 2-(4-morfolino)etilo o ésteres de aciloxialquilo tales como aciloximetilo o 1-aciloxietilo, por ejemplo pivaloiloximetilo, 1-pivaloiloxi-
10 etilo, 1-benzoiloxi-
etilo, isopropoxycarboniloxi-
etilo, ciclohexilcarboniloxi-
etilo, 1-ciclohexilcarboniloxi-
etilo, ciclohexiloxi-
carboniloxi-
etilo, 1-ciclohexiloxi-
carboniloxi-
etilo, 1-(4-tetrahidropiraniloxi)carboniloxi-
etilo o 1-(4-tetrahidropiranil)carboniloxi-
etilo.

Se debe entender que la presente invención engloba todos los isómeros de los compuestos de la fórmula (I) y sus derivados farmacéuticamente aceptables, incluyendo todas las formas geométricas, tautoméricas y ópticas, y sus mezclas (por ejemplo, las mezclas racémicas).

15

Puesto que los compuestos de la fórmula (I) se destinan para uso en composiciones farmacéuticas, se deberá entender que se proporciona cada uno de ellos en forma sustancialmente pura, por ejemplo al menos con 50 % de pureza, al menos con 75 % de pureza y al menos con 95 % de pureza (el % se expresa en base peso/peso). Las preparaciones impuras de los compuestos de la fórmula (I) se pueden usar para preparar las formas más puras usadas en las composiciones farmacéuticas. Aunque la pureza de los compuestos intermedios de la presente invención es menos crítica, se puede entender fácilmente que se prefiere la forma sustancialmente pura como para los compuestos de la fórmula (I). Siempre que sea posible, los compuestos de la presente invención se obtienen en forma cristalina.

20

25

Cuando se deja que alguno de los compuestos de esta invención cristalice o se recrystalice en disolventes orgánicos, el disolvente de cristalización puede estar presente en el producto cristalino. Esta invención incluye dentro de su alcance tales solvatos, incluyendo los solvatos de la molécula de ácido libre y los solvatos de las sales derivadas de la molécula de ácido libre. Similarmente, alguno de los compuestos de esta invención se puede cristalizar o recrystalizar en disolventes que contienen agua. En tales casos, se puede formar agua de hidratación. Esta invención incluye dentro de su alcance los hidratos estequiométricos así como los compuestos que contienen cantidades variables de agua que se puede producir por procedimientos tales como la

30

35

49

liofilización. Esta invención incluye también dentro de su alcance las formas anhidras de los compuestos de la fórmula (I).

En adición, las diferentes condiciones de cristalización pueden llevar a la formación de diferentes formas polimórficas de productos cristalinos. Esta invención incluye dentro de su alcance todas las formas polimórficas de los compuestos de la fórmula (I).

La presente invención incluye también dentro de su alcance todos los compuestos de la fórmula (I) marcados isotópicamente. Tales compuestos son idénticos a los detallados anteriormente, excepto por el hecho de que uno o más átomos de los mismos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o número másico que usualmente se encuentra en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a los compuestos de la fórmula (I) y sus derivados farmacéuticamente aceptables incluyen los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y flúor, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O y ^{18}F .

Los compuestos de la fórmula (I) marcados isotópicamente, por ejemplo aquellos a los que se han incorporado isótopos radiactivos tales como ^3H o ^{14}C , son útiles en los ensayos del fármaco y/o de distribución en el tejido sustrato. Los isótopos tritados, esto es ^3H y los de carbono-14, esto es ^{14}C , son especialmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Los isótopos ^{11}C y ^{18}F son particularmente útiles en la PET (tomografía con emisión de positrones), y son útiles en el diagnóstico cerebral por la imagen. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, esto es, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo el aumento de la semi-vida *in vivo* o la reducción de los requerimientos de dosis, y por tanto pueden ser preferidos en algunas circunstancias. Los compuestos de la fórmula (I) marcados isotópicamente, se pueden preparar llevando a cabo los procedimientos sintéticos descritos en los esquemas y/o en los ejemplos que siguen, reemplazando un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible.

Los compuestos de la fórmula (I) son agonistas del receptor EP_4 y por tanto pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades mediadas por el receptor EP_4 .

En particular los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento del dolor, por ejemplo dolor articular crónico (por ejemplo, artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis reumatoide, artritis gotosa y artritis juvenil) incluyendo la propiedad de modificación de la enfermedad y de protección de la estructura articular; dolor músculoesquelético; lumbalgia y dolor de cuello; esguinces y distensiones musculares;

W

dolor neuropático; dolor mantenido por el simpático; miositis; dolor asociado con el cáncer y fibromialgia; dolor asociado con la migraña; dolor asociado con la gripe u otras infecciones virales, tales como el catarro común; fiebre reumática; dolor asociado con trastornos funcionales del intestino tales como dispepsia no ulcerosa, dolor de
5 pecho no cardíaco y síndrome del intestino irritable; dolor asociado con isquemia miocárdica; dolor post-operatorio; dolor de cabeza; dolor de muelas; y dismenorrea.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser particularmente útiles en el tratamiento del dolor neuropático y los síntomas asociados con el mismo. Los síndromes de dolor neuropático incluyen: neuropatía diabética; ciática; lumbalgia no específica;
10 dolor de la esclerosis múltiple; fibromialgia; neuropatía relacionada con el HIV; neuralgia post-herpética; neuralgia del trigémino; y dolor resultante de traumatismos físicos, amputación, cáncer, toxinas o afecciones inflamatorias crónicas. Los síntomas del dolor neuropático incluyen el dolor espontáneo punzante y lancinante, o dolor ardiente, continuo. Además, se incluyen el dolor asociado con sensaciones normalmente no
15 dolorosas tales como "hormigueo" (parestias y disestesias), la hipersensibilidad al tacto (hiperestesia), sensación dolorosa después de una estimulación inocua (alodinia dinámica, estática o térmica), hipersensibilidad a estímulos nocivos (hiperalgesia térmica, al frío, mecánica), sensación de dolor continuado después de la separación de la estimulación (hiperpatía) o una ausencia o un déficit de las rutas sensoriales se-
20 lectivas (hipoalgesia).

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de la inflamación, por ejemplo en el tratamiento de afecciones de la piel (por ejemplo, quemaduras solares, quemaduras, eczema, dermatitis, psoriasis); enfermedades oftálmicas tales como glaucoma, retinitis, retinopatías, uveitis, y lesiones agudas del
25 tejido ocular (por ejemplo, conjuntivitis); trastornos pulmonares (por ejemplo, asma, bronquitis, enfisema, rinitis alérgica, síndrome del distrés respiratorio, neumopatía de los avicultores, neumopatía de los campesinos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, (COPD); trastornos del tracto gastrointestinal (por ejemplo, úlcera aftosa, enfermedad de Crohn, gastritis atópica, gastritis varialoforme, colitis ulcerosa, enferme-
30 dad celiaca, ileitis regional, síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de reflujo gastrointestinal, diarrea, estreñimiento); trasplante de órganos; otras afecciones con un componente inflamatorio tales como enfermedad vascular, migraña, periarteritis nudosa, tiroiditis, anemia aplásica, enfermedad de Hodgkin, esclerodoma, miastenia grave, esclerosis múltiple, sarcoidosis, síndrome
35 nefrótico, síndrome de Bechet, polimiositis, gingivitis, isquemia miocárdica, pirexia, lupus eritematoso sistémico, tendinitis, bursitis, y síndrome de Sjogren.

col

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de enfermedades inmunológicas tales como las enfermedades autoinmunes, enfermedades por deficiencia inmunológica o trasplante de órganos. Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser eficaces para aumentar la latencia de la infección por HIV.

- 5 Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de enfermedades de activación excesiva o no deseada de las plaquetas, tal como claudicación intermitente, angina inestable, ictus, y síndrome coronario agudo (por ejemplo enfermedades vasculares oclusivas).

- 10 Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también como un fármaco con acción diurética, o pueden ser útiles para tratar el síndrome de vejiga hiperactiva.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de la impotencia o la disfunción eréctil.

- 15 Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de las enfermedades óseas caracterizadas por metabolismo o resorción anormal de los huesos tales como la osteoporosis (especialmente la osteoporosis postmenopáusica), hipercalcemia, hiperparatiroidismo, enfermedades óseas de Paget, osteolisis, hipercalcemia de tumores malignos con o sin metástasis ósea, artritis reumatoide, periodontitis, osteoartritis, ostealgia, osteopenia, calculosis, litiasis (especialmente urolitiasis), gota y espondilitis anquilosante, tendinitis y bursitis.

- 20 Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en la reestructuración ósea y/o ayuda en la generación ósea y/o ayuda en la consolidación de las fracturas.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también para atenuar los efectos colaterales hemodinámicos de los NSAID y de los inhibidores de la COX-2.

- 25 Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares tales como hipertensión o isquemia miocárdica; insuficiencia venosa funcional u orgánica; terapia varicosa; hemorroides; y estados de shock asociados con una marcada caída de la tensión arterial (por ejemplo shock séptico).

- 30 Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas tales como demencia, particularmente la demencia degenerativa (incluyendo la demencia senil, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Pick, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de las neuronas motoras); demencia vascular (incluyendo la demencia por multi-infartos); así como la demencia asociada con las lesiones que ocupan el espacio intracraneal; traumatismos;
- 35

102

infecciones y estados relacionados (incluyendo infección por HIV); metabolismo; toxinas; anoxia y deficiencia vitamínica; y deterioro cognitivo ligero asociado con el envejecimiento, particularmente el deterioro de la memoria asociado con la edad.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de
5 trastornos neurológicos y pueden ser útiles como agentes neuroprotectores. Los compuestos de la invención pueden ser útiles también en el tratamiento de la neurodegeneración después de un ictus, parada cardíaca, circulación extracorpórea, lesiones cerebrales traumáticas, lesión de la médula espinal o similares.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento
10 de las complicaciones de la diabetes tipo 1 (por ejemplo, microangiopatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, degeneración macular, glaucoma), síndrome nefrótico, anemia aplásica, uveítis, enfermedad de Kawasaki y sarcoidosis.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser útiles también en el tratamiento de
15 la disfunción renal (nefritis, particularmente glomerulonefritis proliferativa mesangial, síndrome nefrítico), disfunción hepática (hepatitis, cirrosis) y disfunción gastrointestinal (diarrea).

Se debe entender que cuando se hace en esta memoria cualquier referencia a tratamiento, este incluye tanto el tratamiento de síntomas establecidos como el tratamiento profiláctico.

20 Según una realización adicional de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables para uso en medicina humana o veterinaria.

Según otra realización de la invención, se proporciona un compuesto de la
fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables para uso en el tra-
25 tamiento de una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄.

Según una realización adicional de la invención, se proporciona un método pa-
ra tratar a un sujeto humano o animal que sufre una enfermedad que está mediada por
la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄, que comprende ad-
30 ministrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

Según una realización adicional de la invención, se proporciona un método pa-
ra tratar a un sujeto humano o animal que sufre un dolor, o una enfermedad inflamato-
ria, inmunológica u ósea, una enfermedad neurodegenerativa o una disfunción renal,
35 cuyo método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un com-
puesto de la fórmula (I) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

103

Según otra realización de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE_2 en los receptores EP_4 .

5 Según otra realización de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad tal como el dolor o un trastorno inflamatorio, inmunológico, óseo, neurodegenerativo o renal.

10 Los compuestos de la fórmula (I) y sus derivados farmacéuticamente aceptables se administran convenientemente en la forma de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones se pueden presentar de manera conveniente para uso en una forma convencional en mezcla con uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables.

15 Así, en otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables adaptada para uso en medicina humana o veterinaria.

Aunque es posible que los compuestos de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables sean administrados como materia prima, es preferible
20 que se presenten como una formulación farmacéutica. Las formulaciones de la presente invención comprenden los compuestos de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables junto con uno o más excipientes o diluyentes aceptables de los mismos y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El excipiente o excipientes deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudiciales para el paciente. Por tanto, en una
25 realización la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y un excipiente o diluyente del mismo farmacéuticamente aceptable.

Las formulaciones incluyen aquellas que son adecuadas para administración
30 oral, parenteral (incluyendo la administración subcutánea, por ejemplo, por inyección o por comprimidos depot, intradérmica, intratecal, intramuscular por ejemplo por depot e intravenosa), rectal y tópica (incluyendo dérmica, bucal y sublingual) aunque la vía más adecuada puede depender por ejemplo de la enfermedad y trastorno del paciente. Las formulaciones se pueden presentar de forma conveniente en una forma farmacéu-
35 tica unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia (véanse por ejemplo los métodos descritos en "Remington -

104

The Science and Practice of Pharmacy", 21st Edition, Lippincott, Williams & Wikins, USA, 2005 y las referencias incluidas allí). Todos los métodos incluyen la etapa de poner en asociación el compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables ("ingrediente activo") con el excipiente que constituye uno o más

5 ingredientes accesorios. En general las formulaciones se preparan poniendo en asociación de forma uniforme e íntima, el ingrediente activo con excipientes líquidos o excipientes sólidos finamente divididos o ambos y después, si es necesario, moldear el producto en la formulación deseada.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral

10 se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos (por ejemplo comprimidos masticables en particular para administración pediátrica) conteniendo cada una, una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o en un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida aceite-en-agua o una emulsión líquida

15 agua-en-aceite. El ingrediente activo se puede presentar también como un bolus, electuario o pasta.

Un comprimido se puede preparar por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos por compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma

20 de libre fluidez tal como un polvo o gránulos opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente lubricante, agente tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos por moldeo se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto pulverizado humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y

25 se pueden formular de tal modo que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo.

Las formulaciones para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del pretendido destinatario; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que

30 pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en envases uni-dosis o multi-dosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y se pueden conservar en condiciones de secado por congelación (liofilización) que requieren solamente la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo agua

35 para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones ex-

105

temporáneas para inyección se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito previamente.

Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar como supositorios con los excipientes habituales tales como manteca de cacao, grasas endurecidas o polietilenglicol.

Las formulaciones para administración tópica en la boca, por ejemplo bucalmente o sublingualmente, incluyen comprimidos para chupar que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada tal como sacarosa y goma arábica o tragacanto, y pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden formular también como preparaciones depot. Estas formulaciones de actuación prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo, subcutánea o intramuscularmente) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos de la fórmula (I) se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo como una sal moderadamente soluble.

En adición a los ingredientes especialmente mencionados antes, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica según el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, las adecuadas para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden usar en asociación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo inhibidores de la COX-2, tales como celecoxib, rofecoxib, valdecoxib o parecoxib; inhibidores de la 5-lipoxigenasa; analgésicos tales como paracetamol; los NSAID tales como diclofenaco, indometacina, nabumetona, naproxeno o ibuprofeno; antagonistas del receptor de leucotrienos; los DMARD tales como metotrexato; bloqueantes del canal de sodio tales como lamotrigina; antagonistas del canal de calcio tipo N; moduladores del receptor NMDA, tales como los antagonistas del receptor de glicina; gabapentina, pregabalina y compuestos relacionados; antidepresivos tricíclicos tales como amitriptilina; fármacos antiepilépticos estabilizantes de las neuronas; inhibidores de la absorción mono-aminérgica tales como la venfalaxina; analgésicos opioides; anestésicos locales; agonistas de 5HT₁, tales como los triptanes, por ejemplo sumatriptán, naratriptán, solmitriptán, eletriptán, frovatriptán, almotriptán o rizatriptán; ligandos del receptor EP₁; ligandos del receptor EP₂; ligandos del receptor EP₃; antagonistas EP₁; antagonistas EP₂ y antagonistas EP₃; agonistas del receptor de cannabinoides; antagonistas VR1. Cuando se usan los compuestos en asociación con

106

otros agentes terapéuticos, se pueden administrar los compuestos secuencialmente o simultáneamente por cualquier vía conveniente.

La invención proporciona por tanto, en una realización adicional, una asociación que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéu-
5 ticamente aceptables junto con un agente o agentes terapéuticos adicionales. En una realización de la invención, se proporciona una asociación que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol. En particular la invención proporciona una asociación que comprende ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético o uno
10 de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol.

En otra realización más de la invención, se proporciona una asociación que comprende un agonista del receptor EP₄ o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol. Los agonistas del receptor EP₄ adecuados incluyen los descritos en esta memoria, incluyendo los compuestos de la fórmula (I) y aquellos
15 compuestos descritos en el documento WO02/064564, tal como el ácido {4-[4,9-dipropoxi-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético y en el documento WO01/10426, tal como el ácido {4-[4,9-dietoxi-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético.

Las asociaciones mencionadas anteriormente se pueden presentar de forma
20 conveniente para uso en la forma de una formulación farmacéutica y por tanto las formulaciones farmacéuticas que comprenden una asociación como se ha definido antes junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable constituyen otro aspecto de la invención. En particular se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente
25 aceptables, paracetamol y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. En otra realización se proporciona también una composición farmacéutica que comprende el ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, paracetamol y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los componentes individuales de
30 dichas asociaciones se pueden administrar o secuencialmente o simultáneamente por separado o en formulaciones farmacéuticas combinadas.

Cuando un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables se usa en asociación con un segundo agente terapéutico activo frente a la misma enfermedad, la dosis de cada compuesto puede diferir de la dosis
35 que se administra cuando el compuesto se usa solo. Las dosis apropiadas podrán ser fácilmente apreciadas por los expertos en la técnica.

En una realización de la invención, se proporciona un método para tratar a un sujeto humano o animal que sufre una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol.

En otra realización de la invención, se proporciona un método para tratar a un sujeto humano o animal que sufre una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol.

Una dosis diaria propuesta de los compuestos de la fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables para el tratamiento del hombre varía de 0,001 a 30 mg/kg de peso corporal al día y más particularmente 0,1 a 3 mg/kg de peso corporal al día, calculado como ácido libre, que se puede administrar como una dosis única o dividida, por ejemplo una a cuatro veces al día. El intervalo de dosis para los seres humanos adultos varía generalmente de 0,1 a 1000 mg/día, tal como de 10 a 800 mg/día, preferiblemente 10 a 200 mg/día, calculado como ácido libre.

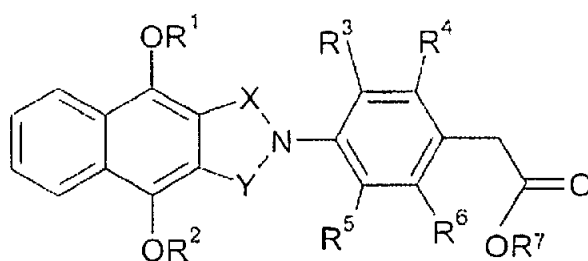
Una dosis diaria adecuada de paracetamol es hasta 4000 mg al día. Las dosis unitarias adecuadas incluyen 200, 400, 500 y 1000 mg, una, dos, tres o cuatro veces al día.

La cantidad exacta de los compuestos de la fórmula (I) administrada a un receptor, particularmente un paciente humano, será responsabilidad del médico que le atiende. Sin embargo, la dosis empleada dependerá de una serie de factores que incluyen la edad y el sexo del paciente, la enfermedad precisa a ser tratada y su gravedad, la vía de administración y cualquier posible terapia de asociación que pueda ser realizada.

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar los compuestos de la fórmula (I) y sus derivados farmacéuticamente aceptables.

Así, en una realización de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) en el que, uno de X e Y representa C=O y el otro representa CH₂ y R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido aquí anteriormente en relación con la fórmula (I), cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II),

108

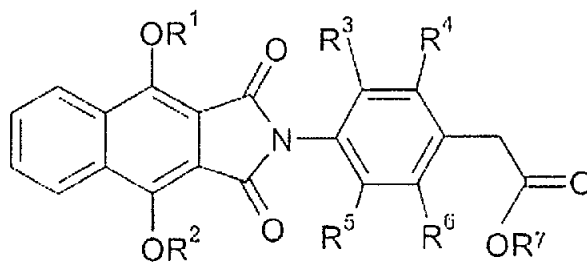


(II)

en la que, uno de X e Y representa C=O y el otro representa CH₂; R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido aquí anteriormente en relación con la fórmula (I); y R⁷ representa alquilo C₁₋₆; con una base adecuada, tal como hidróxido de sodio, y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro.

En una realización, la reacción mencionada antes que comprende un compuesto de la fórmula (II) se lleva a cabo en un disolvente adecuado, tal como etanol, a reflujo.

En otra realización de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) en el que X e Y representan C=O y R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido aquí anteriormente en relación con la fórmula (I), cuyo procedimiento comprende añadir un compuesto de la fórmula (III),



(III)

en la que R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido aquí anteriormente en relación con la fórmula (I); y R⁷ representa alquilo C₁₋₆; a un ácido adecuado o mezcla de ácidos, tal como ácido acético glacial en presencia de ácido clorhídrico, y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro.

En una realización, la reacción mencionada antes que comprende un compuesto de la fórmula (III) se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de aproximada-

con

mente 50 a 110 °C, durante un periodo de tiempo en el intervalo de aproximadamente 2 a 70 horas. En una realización, la relación molar de ácido acético glacial a un ácido, tal como ácido clorhídrico, presente en la mezcla de reacción es 1:1.

Se podrá apreciar que los compuestos de la fórmula (I) en los que uno de X e Y
5 representa C=O y el otro representa CH₂ y R¹, R², R³ y R⁴ son como se han definido aquí anteriormente en relación con la fórmula (I), se pueden preparar también usando las condiciones de hidrólisis ácida indicadas antes.

Los compuestos de las fórmulas (II) y (III) se pueden preparar según el Esque-
ma 1.

10

15

20

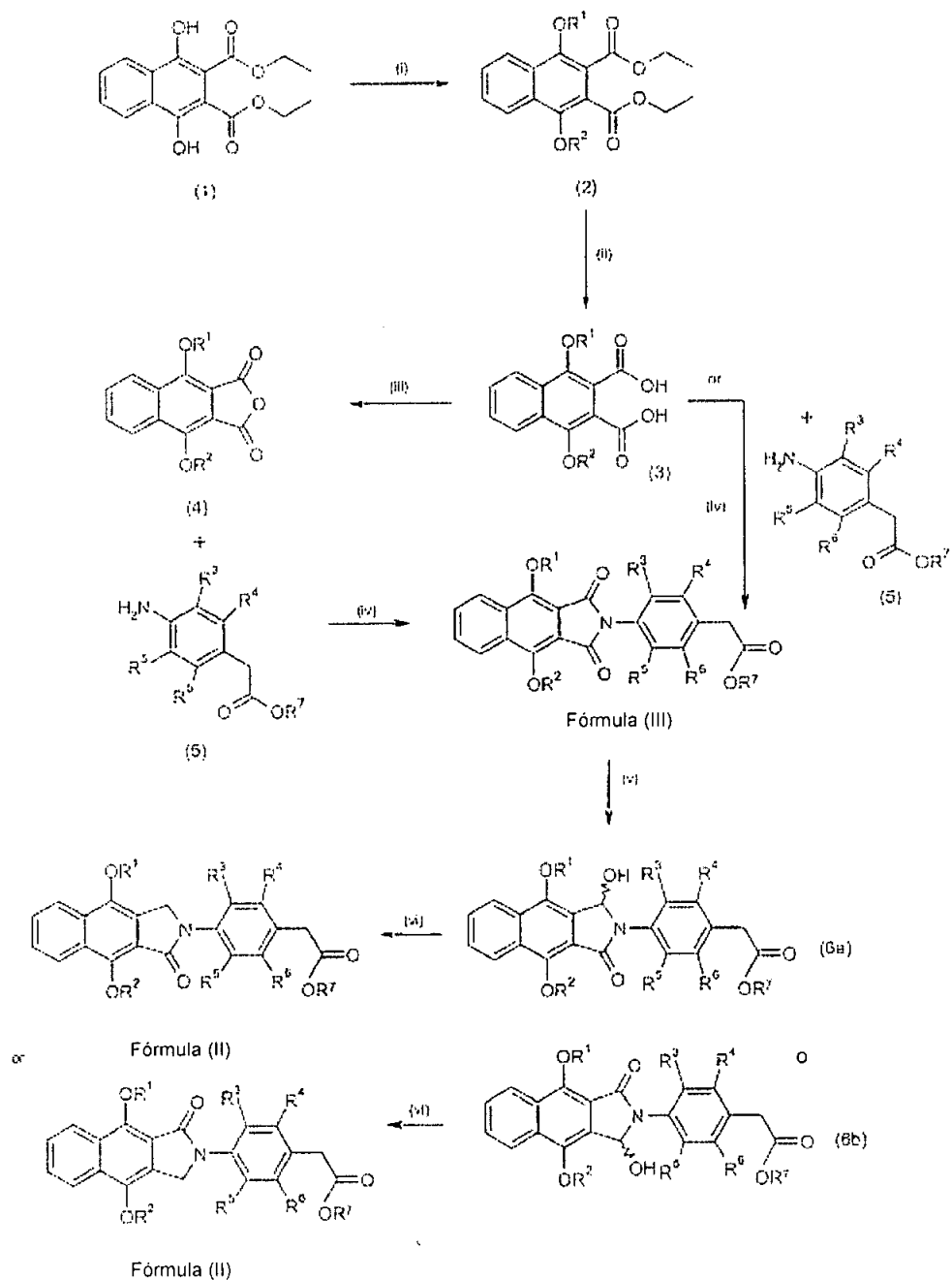
25

30

35

110

Esquema 1



- 5 (i) R-Br o R-I, K₂CO₃, acetona; (ii) NaOH/H₂O, EtOH; (iii) SOCl₂, CHCl₃ o EtOH; (iv) CH₃CO₂H, opcionalmente DMAP; (v) NaBH₄, MeOH/THF; (vi) Et₃SiH, TFA o TFA/DCM o DCM; (donde R = R¹ = R²; y R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son como se han definido en relación con la fórmula (II)).

CU

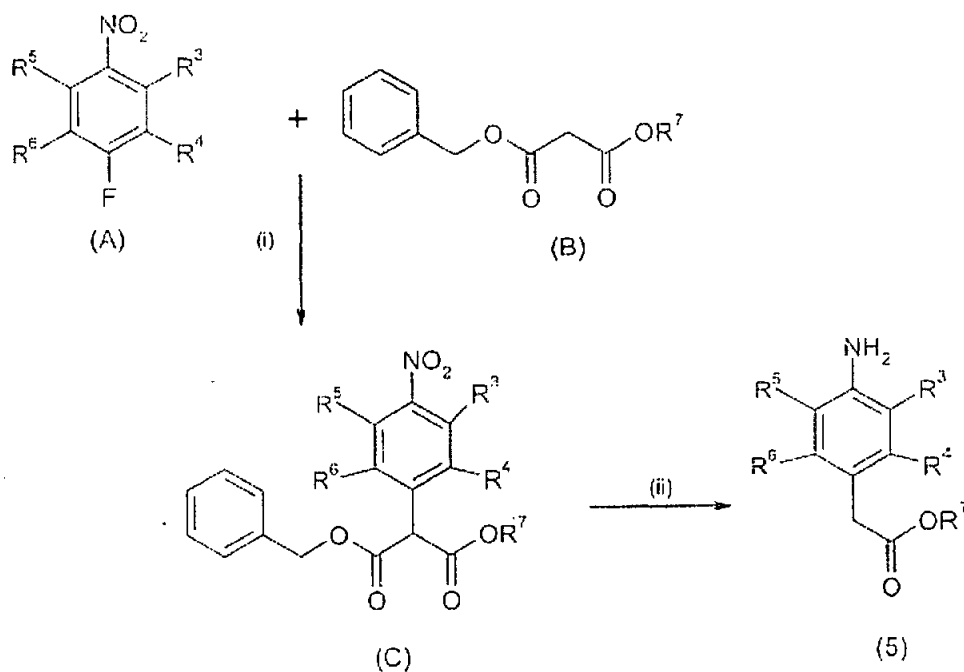
Los compuestos de la fórmula (2) en los que $R^1 \neq R^2$ se pueden preparar haciendo reaccionar el compuesto de la fórmula (1) en etapas con un haluro de alquilo R^1X , seguido por un segundo haluro de alquilo R^2X , o viceversa, en las condiciones mencionadas anteriormente.

5 El compuesto (1) se puede preparar a partir de ftalato de dietilo de acuerdo con el método descrito en la Solicitud de patente internacional, Publicación Número WO02/064564.

Los compuestos de la fórmula (5) se pueden preparar según los esquemas 2, 3 y 4,

10

Esquema 2



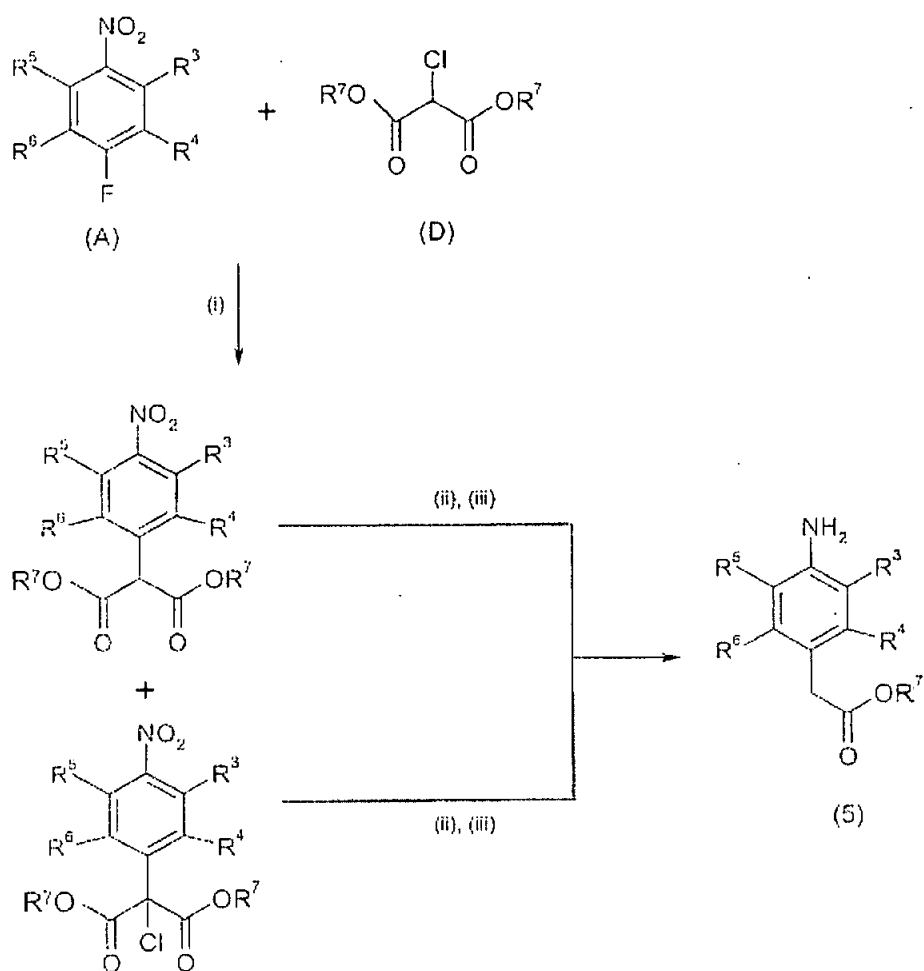
(i) NaH, DMF seca; (ii) $\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$, EtOH, Pd/C; (donde R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son como se han definido en relación con la fórmula (II)).

15

20

112

Esquema 3



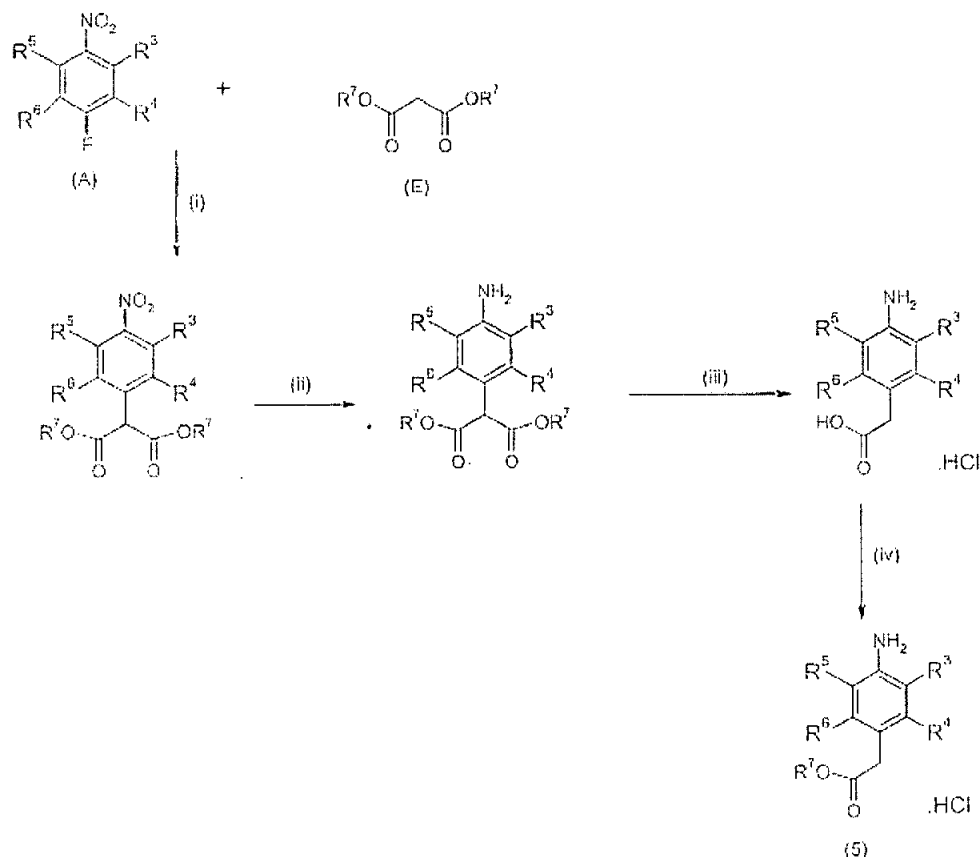
- 5 (i) NaH , DMF seca; (ii) $\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$, EtOH , Pd/C ; (iii) NaOH , H_2O , EtOH (donde R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son como se han definido en relación con la fórmula (II)).

10

15

113

Esquema 4



(i) Base (por ejemplo, K_2CO_3), $50\text{ }^\circ C$, DMF seca; (ii) H_2 , Pd/C; (iii) $HCl_{(acuoso)}$; y (iv) EtOH, HCl (donde R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son como se han definido en relación con la fórmula (II)).

Los compuestos de la fórmula (A) están comercialmente disponibles o se pueden preparar según métodos conocidos en la técnica (por ejemplo el 2,4-difluoronitrobenzenceno y el 3,4-difluoronitrobenzenceno se pueden adquirir de Sigma-Aldrich Co. Ltd.).

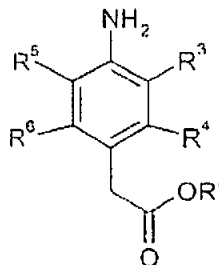
Los compuestos de la fórmula (B) están comercialmente disponibles o se pueden preparar según métodos conocidos en la técnica (por ejemplo el malonato de bencilo y etilo se puede adquirir de Sigma-Aldrich Co. Ltd.).

Los compuestos de la fórmula (D) están comercialmente disponibles o se pueden preparar según métodos conocidos en la técnica (por ejemplo el cloromalonato de dietilo se puede adquirir de Sigma-Aldrich Co. Ltd.).

Los compuestos de la fórmula (E) están comercialmente disponibles o se pueden preparar según métodos conocidos en la técnica (por ejemplo el malonato de dietilo se puede adquirir de Sigma-Aldrich Co. Ltd.).

✓

En otra realización de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (3) o un compuesto de la fórmula (4), como se describen en el Esquema 1, con un
5 compuesto de la fórmula (IV),



(IV)

en la que R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido en relación con la fórmula (I) y R' representa H o alquilo C₁₋₆, y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la
10 fórmula (I) en otro.

Los compuestos de la fórmula (IV) en los que R' representa H se pueden preparar por la hidrólisis de los compuestos de la fórmula (5).

Las siguientes Descripciones y Ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de la fórmula (I). Las Descripciones se refieren a compuestos intermedios.
15

Abreviaturas

DCM	diclorometano
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	dimetilformamida
20 DMSO	dimetilsulfóxido
EtOH	etanol
EtOAc	acetato de etilo
HCl	ácido clorhídrico
LC/MS	cromatografía de líquidos/espectroscopía de masas
25 MeOH	metanol
MDAP	preparación automática dirigida por masas
NaOH	hidróxido de sodio
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano

Procedimientos analíticos

30

115

LC/MS

Columna

Waters Atlantis (4,6 mm x 50 mm). Tamaño de partícula de la fase estacionaria, 3 µm.

Disolventes

- 5 A: disolvente acuoso = agua + 0,05 % de ácido fórmico
B: disolvente orgánico = acetonitrilo + 0,05 % de ácido fórmico

Método

Tiempo / min	% de B
0	3
0,1	3
4	97
4,8	97
4,9	3
5,0	3

- Caudal, 3 ml/min
- 10 • Volumen de inyección, 5 µl
- Temperatura de la columna, 30 °C
- Intervalo de detección en UV, 220 a 330 nm.

Todos los tiempos de retención se miden en minutos.

Como se usa aquí, 'CV' significa volumen de la columna.

15 NMR

- Los espectros ¹H NMR se registraron en un espectrofotómetro NMR Bruker AVANCE 400 o en un espectrofotómetro NMR Bruker DPX250. los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm, unidades δ). Las constantes de acoplamiento (J) se dan en unidades hertz (Hz). Los patrones de desacoplamiento describen multiplicidades aparentes y se designan como s (singlete), d (doblete), t (triplete), q (cuadruplete), dd (doble doblote), dt (doble triplete), m (multiplete), br (ancho).
- 20

Técnicas de purificación

- La purificación de los ejemplos se puede realizar por métodos convencionales tales como cromatografía y/o recristalización usando disolventes adecuados. Los métodos
- 25 cromatográficos incluyen cromatografía en columna, cromatografía rápida, HPLC (cromatografía de líquidos de alta resolución), SFC (cromatografía de fluidos supercrítica), y MDAP (preparación automática dirigida por masas).

El término "Biotage" cuando se usa aquí se refiere a cartuchos preempaquetados con gel de sílice comercialmente disponibles.

116

Preparación automática dirigida por masas (MDAP)

Columna

Waters Atlantis: 19 mm x 100 mm (escala pequeña); y 30 mm x 100 mm (escala grande).

- 5 Tamaño de partícula de la fase estacionaria, 5 μ m.

Disolventes

A: disolvente acuoso = agua + 0,1 % de ácido fórmico

B: disolvente orgánico = acetonitrilo + 0,1 % de ácido fórmico

Disolvente de preparación = metanol:agua 80;20

- 10 Disolvente para lavado de la aguja = metanol

Métodos

Se usaron cinco métodos dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés:

- (1) Escala grande/pequeña 1,0-1,5 = 5-30 % de B
15 (2) Escala grande/pequeña 1,5-2,2 = 15-55 % de B
(3) Escala grande/pequeña 2,2-2,9 = 30-85 % de B
(4) Escala grande/pequeña 2,9-3,6 = 50-99 % de B

El tiempo de cromatografía fue 13,5 minutos, comprendiendo un gradiente de 10 minutos seguido por un lavado de columna de 3,5 minutos y una etapa de reequilibrio.

- 20 (5) Escala grande/pequeña 3,6-5,0 = 80-99 % de B

El tiempo de cromatografía fue 13,5 minutos, comprendiendo un gradiente de 6 minutos seguido por un lavado de columna de 7,5 minutos y una etapa de reequilibrio.

Cuando estuvo indicado, se emplearon condiciones de "gradiente suave" como sigue:

- Gran escala 1,5 a 2,3 min = 13-29 % de B
25 Gran escala 1,9 a 2,3 min = 25-41 % de B
Gran escala 2,3 a 2,6 min = 37-53 % de B
Gran escala 2,6 a 3,1 min = 49-65 % de B
Gran escala 3,1 a 3,6 min = 61-77 % de B

- Tiempo de cromatografía 13,5 minutos, comprendiendo un gradiente de 10 minutos
30 seguido por un lavado de columna de 3,5 minutos y una etapa de reequilibrio.

Caudal

20 ml/min (pequeña escala) o 40 ml/min (gran escala).

Descripción 1a

1,4-Bis(propiloxy)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo

MA

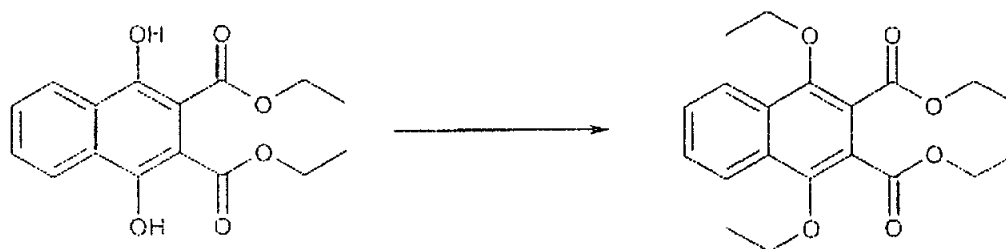


Se disolvió en acetona (180 ml) el 1,4-dihidroxi-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo* (11 g, 36,1 mmol) y se añadió carbonato de potasio (24,9 g, 180,5 mmol) y se agitó. Se añadió 1-bromopropano (13,1 ml, 144,4 mmol) y se calentó la mezcla de reacción a reflujo (60 °C) durante la noche bajo argón. Se enfrió la reacción a temperatura ambiente y se separó por filtración el sólido inorgánico. Se evaporó el disolvente para dar un aceite de color pardo anaranjado. Se recogió el residuo en tolueno y se lavó con solución de hidróxido de potasio al 5 %, salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio. Se separó el disolvente con vacío para dar un aceite pardo que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 10 % en hexano. Las fracciones limpias se evaporaron para dar el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo (11,45 g, 29,5 mmol).

LC/MS: Rt = 3,87, [MH]⁺ 389

Descripción 1b

15 1,4-Bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo



Se disolvió en acetona (400 ml) el 1,4-dihidroxi-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo* (25 g, 82,2 mmol) y se añadió carbonato de potasio (34 g, 246,5 mmol). Se agitó durante 20 minutos. Se añadió yoduro de etilo (19,8 ml, 248,5 mmol) y se calentó la mezcla a 60 °C durante 7 horas. Se enfrió a temperatura ambiente y se separó el sólido por filtración. Se evaporó el disolvente para dar un aceite anaranjado que se sometió a reparto entre acetato de etilo y salmuera. Se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (x3) y los extractos orgánicos reunidos se lavaron con agua y se secaron sobre MgSO₄. Se evaporó para dar un sólido pardo (~29 g). Se purificó el material crudo por

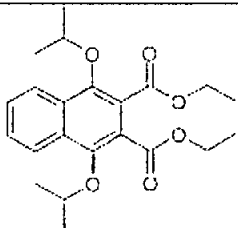
ms

cromatografía rápida en columna eluyendo con acetato de etilo al 0-15 % en hexano sobre 30 CV (hexano 2CV, EtOAc al 5 %/hexano 2CV, EtOAc al 10 %/hexano 4CV, EtOAc al 12 %/hexano 2CV, EtOAc al 15 %/hexano 20CV). Se evaporaron las fracciones para dar un sólido de color rosa. Se trituro en hexano frío para dar el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (3 lotes, total 24,83 g, 68,9 mmol).

LC/MS: Rt = 3,52, [MH]⁺ 287.

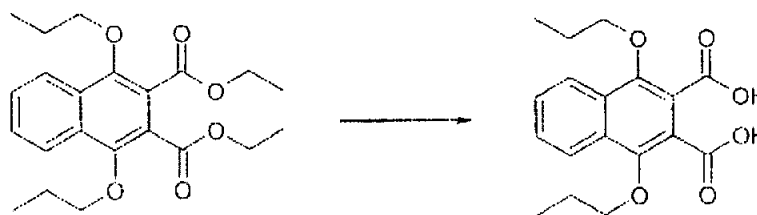
* El 1,4-dihidroxi-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo se puede preparar de acuerdo con el método descrito en la Solicitud de patente internacional, Publicación Número WO02/064564.

El siguiente compuesto se preparó de manera similar al 1,4-bis(propiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo usando los materiales de partida apropiados.

	Nombre	LC/MS
	1,4-bis(1-metiletoxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo	Rt=3,63 [MH] ⁺ 389

Descripción 2a

Ácido 1,4-bis(propiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico



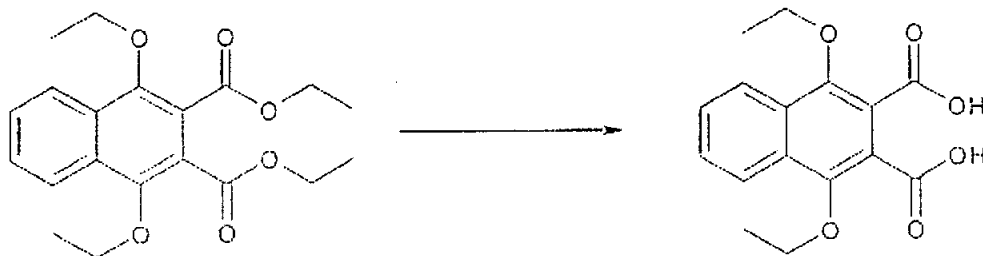
Se disolvió en etanol (70 ml) el 1,4-bis(propiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo (11,45 g, 29,5 mmol) y se trató con hidróxido de sodio (3,54 g, 88,5 mmol) disuelto en agua (15 ml). Se calentó a 60 °C bajo argón durante 4 horas. Se confirmó que se había completado la reacción por LC/MS y cromatografía en capa fina. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se evaporó hasta un tercio del volumen. Se acidificó hasta pH 2 con ácido clorhídrico (2 N) y se extrajo con acetato de etilo (3x 100 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. Se evaporó el disolvente para dar el compuesto del epígrafe como un sólido amarillo (8,91 g, 26,8 mmol).

Ma

LC/MS: Rt = 2,74, [MH]⁺ 333

Descripción 2b

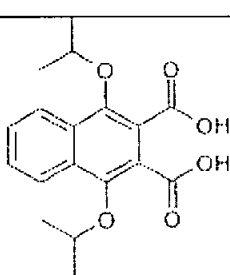
Ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico



- 5 Se suspendió en etanol (200 ml) el 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo (24,8 g, 68,8 mmol) y se trató con hidróxido de sodio (8,3 g, 206,4 mmol) disuelto en 200 ml de agua. Se añadieron 50 ml más de etanol para ayudar en la agitación. Se calentó a reflujo, 100 °C. Se disolvió todo al calentar. Se mantuvo a reflujo durante 8 horas. Se enfrió a temperatura ambiente y se mantuvo durante la noche. Se evaporó el disolvente hasta casi sequedad. Se añadió agua y se agitó en un baño de hielo. Se acidificó con solución de HCl 2 M (~150 ml). Se filtró el precipitado blanco, se lavó con agua y se secó en una estufa de vacío para dar el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (18,77 g, 61,7 mmol).

LC/MS: Rt = 2,34, [MH]⁺ 305

- 15 El siguiente compuesto se preparó de manera similar al ácido 1,4-bis(propiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico usando los materiales de partida apropiados.

	Nombre	LC/MS
	ácido 1,4-bis(1-metiletoxi)-2,3-naftalendicarboxílico	Rt=2,50 [MH] ⁺ 331

Descripción 3a

4,9-Bis(propiloxi)nafto[2,3-c]furan-1,3-diona

120

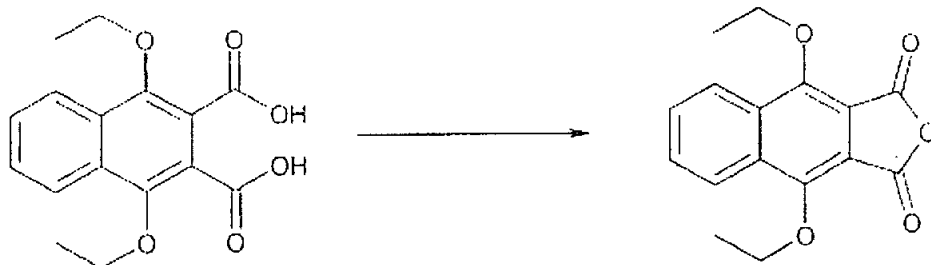


Se suspendió en cloroformo (80 ml) el ácido 1,4-bis(propiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico (8,91 g, 26,8 mmol) y se añadió gota a gota cloruro de tionilo (20,5 ml, 281,4 mmol) mientras se vigilaba la temperatura (ningún cambio significativo). Se calentó la reacción a 65 °C durante 2,5 horas. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se concentró en vacío. El sólido pardo amarillento se destiló azeotrópicamente con cloroformo (x3) para dar el compuesto del epígrafe como un sólido beige (8,74 g, 27,8 mmol).

LC/MS: Rt = 3,77, [MH]⁺ 315

10 Descripción 3b

4,9-Bis(etiloxi)nafto[2,3-c]furan-1,3-diona

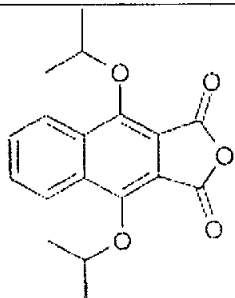


Se añadió a un matraz de tres bocas ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico (10,3 g, 33,8 mmol) y se añadió cloroformo (80 ml) y se agitó. Se añadió gota a gota cloruro de tionilo (49,2 ml, 355,4 mmol) desde un embudo de adición durante 25 minutos mientras se vigilaba la temperatura (ningún cambio). Se calentó la reacción a reflujo (65 °C) durante la noche. La LC/MS indicó que no quedaba ningún material de partida. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se evaporó el disolvente. El producto se destiló azeotrópicamente con cloroformo (x2) para separar las trazas restantes de cloruro de tionilo para dar el compuesto del epígrafe como un sólido amarillo pálido (9,86 g).

LC/MS: Rt = 3,48, [MH]⁺ 287

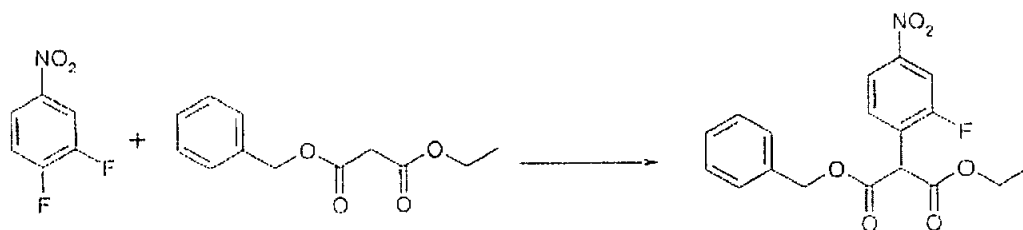
El siguiente compuesto se preparó de manera similar a la 4,9-bis(etiloxi)nafto[2,3-c]furan-1,3-diona usando los materiales de partida apropiados.

121

	Nombre	LC/MS
	4,9-bis(1-metiletoxi)nafto[2,3-c]furan-1,3-diona	Rt=3,6 [MH] ⁺ 315

Descripción 4

(2-Fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de etilo y fenilmetilo

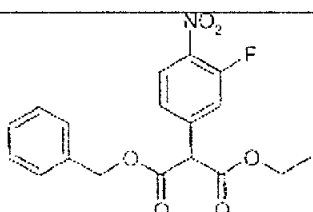


- 5 Se enfrió en un baño de hielo malonato de bencilo y etilo (2,9 g, 12,6 mmol) en DMF seca (20 ml) y se vigiló la temperatura mientras se añadía hidróxido de sodio (504 mg, 12,6 mmol) en porciones. Se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos hasta que cesó la evolución de H₂. Se añadió 3,4-difluoronitrobenzene (2 g, 12,6 mmol) en atmósfera de argón y se obtuvo un cambio de color rojo oscuro. Se calentó
- 10 la mezcla de reacción a 100 °C durante 20 horas bajo argón. Se confirmó que se había completado la reacción por cromatografía en capa fina (acetato de etilo al 20 % en hexano). Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se sometió a reparto entre ácido clorhídrico 2 N (75 ml) y acetato de etilo (75 ml). Se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 75 ml) y las fracciones orgánicas reunidas se evaporaron hasta un aceite amarillo. Por purificación por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 0-20 % en hexano se obtuvo el compuesto del epígrafe
- 15 como un aceite amarillo (3,86 g, 10,6 mmol).

LC/MS: Rt = 3,40, [MH]⁺ 362

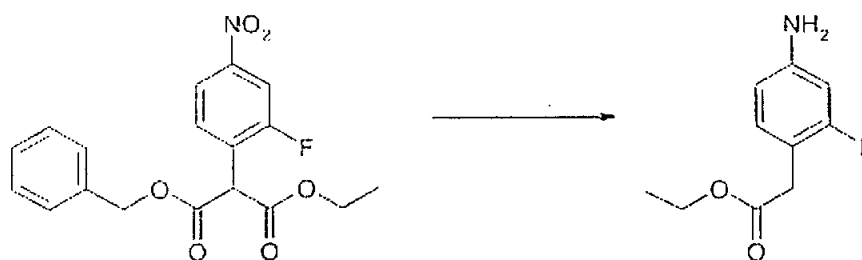
- 20 El siguiente compuesto se preparó de manera similar al (2-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de etilo y fenilmetilo usando los materiales de partida apropiados.

122

	Nombre	LC/MS
	(3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de etilo y fenilmetilo	Rt=3,30 [MH] ⁺ 362

Descripción 5

(4-Amino-2-fluorofenil)acetato de etilo



5

Se trató con formiato de amonio (6,7 g, 10,6 mmol) bajo argón, (2-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de etilo y fenilmetilo (3,86 g, 10,6 mmol) disuelto en etanol (50 ml). Se añadió pasta de paladio al 10 % sobre carbón (380 mg) y se agitó la reacción a reflujo durante 3 horas (60 °C). Se enfrió la reacción a temperatura ambiente y se separó el catalizador por filtración a través de celita. Se eliminó el disolvente para dar un aceite pardo. Se purificó el material crudo por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 0-50 % en hexano (1.1) a lo largo de 45 minutos. Se evaporaron las fracciones para dar el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo (1,26 g, 6,4 mmol).

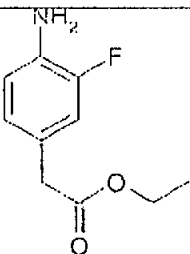
15

LC/MS: Rt = 2,10, [MH]⁺ 198

El siguiente compuesto se preparó de manera similar al (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo usando los materiales de partida apropiados.

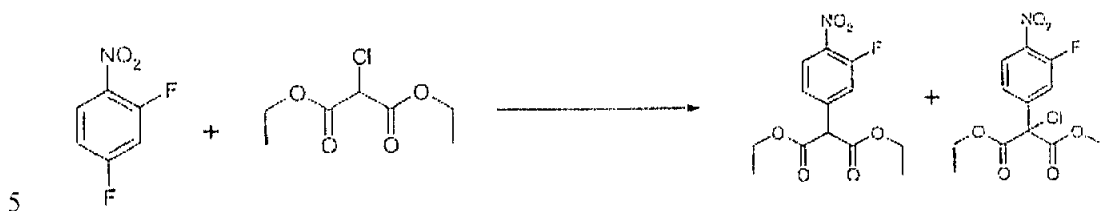
20

123

	Nombre	LC/MS
	(4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo	Rt=2,20 [MH] ⁺ 198

Descripción 6

Cloro(3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo y (3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo



Se enfriaron en un baño de hielo 2,4-difluoronitrobenceno (31,5 ml, 287 mmol) y cloromalonato de dietilo (46,5 ml, 287 mmol) disueltos en DMF seca (300 ml). Se añadió hidróxido de sodio triturado en porciones a lo largo de 20 minutos. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Se enfrió de nuevo la reacción en un baño de hielo y se acidificó con HCl 2 N (~400 ml). Se extrajo con acetato de etilo (2 x 400 ml, 1 x 200 ml), los extractos orgánicos se lavaron con agua y se secaron sobre MgSO₄. Se evaporaron para dar un aceite anaranjado (~89 g). Se cargó el material sobre un cartucho de 1,5 kg de Si y se purificó sobre CombiFlash® Companion™ XL eluyendo con acetato de etilo al 0-20 % en hexano sobre 10 volúmenes de columna. Se evaporaron las fracciones para dar cloro(3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo como un aceite amarillo (9,09 g), (3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo como un aceite amarillo (24,7 g), y una mezcla de los 2 como un aceite amarillo que cristalizó en reposo (1,7 g).

20 Cloro(3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo

LC/MS: Rt = 3,18;

¹H NMR (CDCl₃) δ ppm: 1,32 (6H, t, J=7,8Hz), 4,35 (4H, m), 7,64 (1H, dd, J=11,9, 2,1Hz), 7,56 (1H, ddd, J=8,9, 2,1, 1,1Hz), 8,08 (1H, dd, J=8,7, 7,6Hz).

(3-Fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo

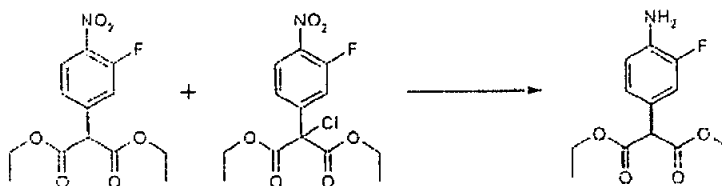
25 LC/MS: Rt = 2,96, MH⁺=300;

12H

^1H NMR (CDCl_3) δ ppm: 1,29 (6H, t, $J=7,1\text{Hz}$), 4,25 (4H, m), 4,67 (1H, s), 7,45 (1H, dd, $J=11,5, 1,8\text{Hz}$), 7,35 (1H, ddd, $J=8,6, 1,5, 0,8\text{Hz}$), 8,06 (1H, dd, $J=8,4, 7,9\text{Hz}$).

Descripción 7

(4-Amino-3-fluorofenil)propanodioato de dietilo

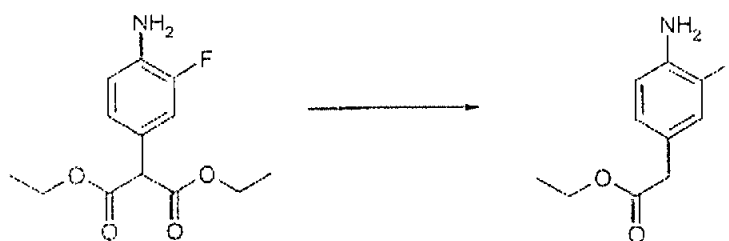


Una mezcla de cloro(3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo y (3-fluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo (1,7 g, ~5,7 mmol) suspendida en etanol se trató con 5-10 ml de acetato de etilo hasta que se disolvió. Se trató esta solución con Pd al 10 %/C (pasta húmeda) (170 mg) bajo argón y después se añadió formiato de amonio (1,8 g, 5 equivalentes). Se agitó durante 1 hora a reflujo bajo argón. Se enfrió a temperatura ambiente y se separó el Pd por filtración a través de celita, bajo argón. Se evaporó hasta un aceite pardo ~1,7 g. Se purificó por cromatografía rápida, cartucho 40+™M Si, eluyendo con acetato de etilo al 5-40 % en hexano sobre 10 volúmenes de columna. Se evaporaron las fracciones para dar el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo (722 mg).

LC/MS: $R_t = 2,65$, $MH^+ = 270$.

Descripción 8

(4-Amino-3-fluorofenil)acetato de etilo



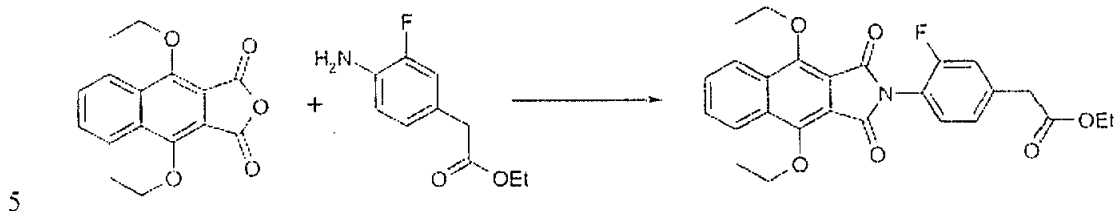
Se disolvió (4-amino-3-fluorofenil)propanodioato de dietilo (11,85 g, 44,1 mmol) en etanol (80 ml) y se trató con NaOH (2,6 g, 1,5 eq.) disuelto en 18 ml de agua para dar una solución de color rosa. Se calentó ésta a 90 °C durante una hora hasta que fue completa. Se continuó calentando durante 1 hora más, y después se enfrió a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y se acidificó con HCl 2 N. Se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . Se evaporaron para dar el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo que cristalizó lentamente en reposo (6,6 g).

17

LC/MS: Rt = 2,28, MH⁺=198.

Descripción 9

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo



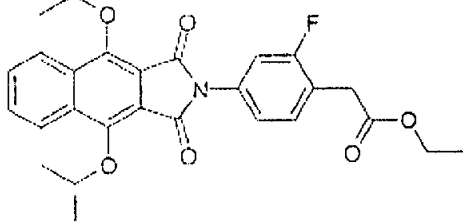
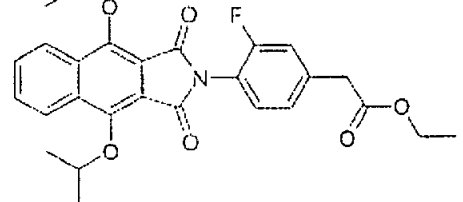
4,9-Bis(etiloxi)nafto[2,3-c]furan-1,3-diona (0,100 g, 0,35 mmol) en ácido acético (5 ml), se trató con DMAP (0,013 g, 0,11 mmol) después con (4-amino-3-fluorofenil)acetato de etilo (0,138 g, 0,70 mmol) y se calentó a reflujo (120 °C) bajo argón durante la noche. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se evaporó el disolvente para dar un aceite pardo anaranjado que se diluyó en DCM y se lavó con NaHCO₃ saturado y después con HCl 2 N. Se secaron los extractos orgánicos sobre MgSO₄ y se evaporaron hasta un aceite pardo que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo (0-20 %) en hexano a lo largo de 30 minutos. Las fracciones evaporadas se trituraron con hexano para dar el compuesto del epígrafe como un sólido (0,110 g, 0,24 mmol, 69 %).

LC/MS: Rt = 3,74, [MH]⁺ 466

Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar al {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo usando los materiales de partida apropiados.

	Nombre	LC/MS
	{4-[1,3-dioxo-4,9-bis-(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acetato de etilo	Rt=4,13 [MH] ⁺ 494
	{4-[1,3-dioxo-4,9-bis-(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acetato de etilo	Rt=4,05 [MH] ⁺ 494

126

	{4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acetato de etilo	Rt=4,01 [MH]⁺ 494
	{4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acetato de etilo	Rt=3,92 [MH]⁺ 494

Descripción 10

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo



5

Se añadió ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico (18,77 g, 61,7 mmol) a (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo (13,88 g, 67,9 mmol) en ácido acético (190 ml), y se calentó a reflujo. La LC/MS realizada a las 17 horas indicó que la reacción era incompleta. Se añadió más (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo (4 g, 20 mmol) y se continuó calentando. Después de 3 horas de calentamiento adicional, se añadió más (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo (3 g, 15 mmol) y se continuó calentando. Después de otras 2 horas de calentamiento, se añadió más (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo (3 g, 15 mmol) y se continuó calentando durante 6 horas adicionales. Se enfrió entonces la mezcla de reacción y el producto se separó de la solución por cristalización. Se diluyó con agua (200 ml) y se formó más precipitado. Se filtró y se lavó el sólido con ácido acético adicional (500 ml) para eliminar tanto color como fue posible, y después se lavó con agua (500 ml). Se secó el sólido en una estufa de vacío durante la noche para dar un sólido ligeramente pardo (12,01 g). Se filtró de nuevo la solución acuosa y se lavó el sólido con más ácido acético y agua, y se secó para dar un sólido

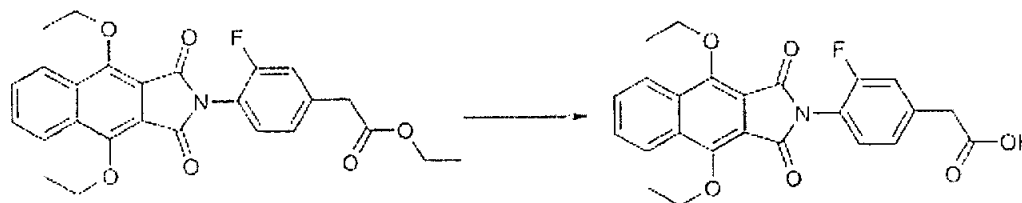
20

ligeramente pardo (1,4 g). La solución ácida procedente de lo anterior se filtró de nuevo y se lavó el sólido con más ácido acético y agua, y se secó para dar un sólido ligeramente pardo (6,12 g). Se concentraron todos los filtrados ácidos en vacío (~250 ml) y se enfriaron. Se filtró el sólido que había cristalizado, se lavó con más ácido acético (50 ml) y agua, y se secó para dar un sólido blanco (2,19 g). En el filtrado cristalizó sólido adicional que se filtró, se lavó con más ácido acético (50 ml) y agua, y se secó para dar un sólido pardo (3,76 g, ~ 60 % de pureza = 2,27 g de producto). Rendimiento total del compuesto del epígrafe, 24 g.

LC/MS: Rt = 3,81, [MH]⁺ 466

10 Ejemplo 1

Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético



15 Se disolvió {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo (0,050 g, 0,11 mmol) en ácido acético glacial (2 ml) y se añadió ácido clorhídrico 2 N (2 ml) lo que produjo un precipitado. Se calentó la mezcla de reacción a 100 °C bajo argón (el precipitado se volvió a disolver) durante 2 horas. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se añadió agua, con agitación durante 5 minutos. Se formó un precipitado sólido que se filtró, se lavó con agua, y se recogió para dar el compuesto del epígrafe como un sólido amarillo. Se secó el producto durante la noche en una estufa de vacío (0,024 g, 0,05 mmol).

LC/MS: Rt = 3,27, [MH]⁺ 438

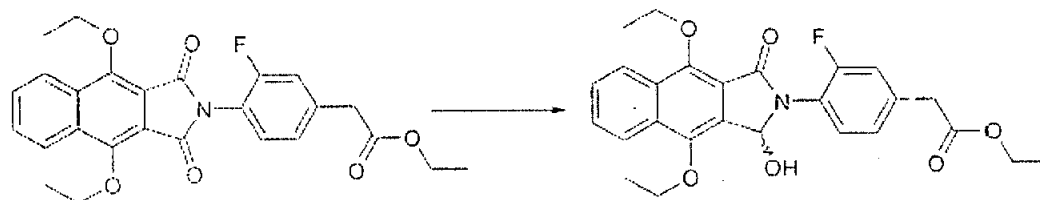
25 Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar al ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acético usando los materiales de partida apropiados.

128

Ejemplo		Nombre	LC/MS
Ejemplo 2		Ácido {4-[1,3-dioxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético	Rt=3,63 [MH] ⁺ 466
Ejemplo 3		Ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético	Rt=3,41 [MH] ⁺ 466

Descripción 11

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo



5

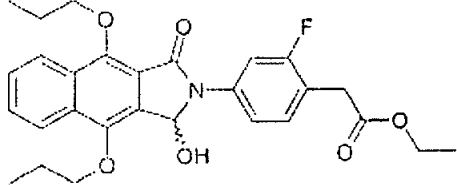
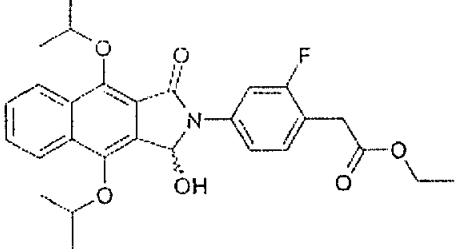
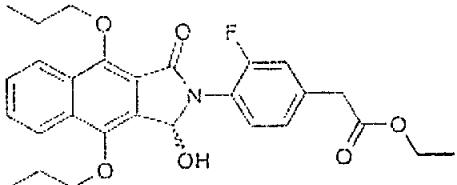
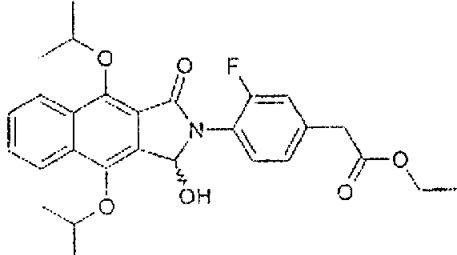
Se suspendió en metanol (2 ml), {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo (0,112 g, 0,24 mmol) y se añadió tetrahidrofurano (3 ml) para disolver el reactante. Se enfrió la mezcla de reacción a 0 °C en un baño de hielo y se añadió borohidruro de sodio (0,027 g, 0,72 mmol) en porciones. Se agitó bajo argón durante 2-3 horas a 0 °C. Se añadió más borohidruro de sodio a la reacción para forzar a que se completara. Se evaporó la mezcla de reacción hasta un sólido y se sometió a reparto entre EtOAc y cloruro de amonio (saturado). Se extrajo la capa acuosa con EtOAc (x2) y los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Se evaporó el disolvente para dar el compuesto del epígrafe como un residuo gomoso, que se trituró con hexano para dar un sólido (0,111 g, 0,23 mmol).

15

LC/MS: Rt = 3,29, [MH]⁺ 468

129

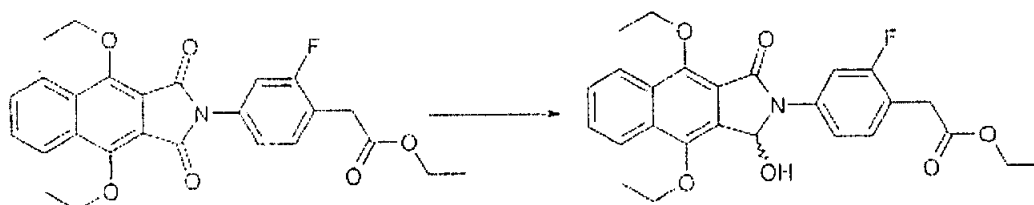
Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar al {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo usando los materiales de partida apropiados.

	Nombre	LC/MS
	{2-fluoro-4-[1-hidroxi-3-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acetato de etilo	Rt=3,84 [MH] ⁺ 496
	{2-fluoro-4-[1-hidroxi-4,9-bis-(1-metiletoxi)-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}acetato de etilo	Rt=3,68 [MH] ⁺ 496
	{3-fluoro-4-[1-hidroxi-3-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acetato de etilo	Rt=3,64 [MH] ⁺ 496
	{3-fluoro-4-[1-hidroxi-4,9-bis-(1-metiletoxi)-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}acetato de etilo	Rt=3,52 [MH] ⁺ 496

5

Descripción 12

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo



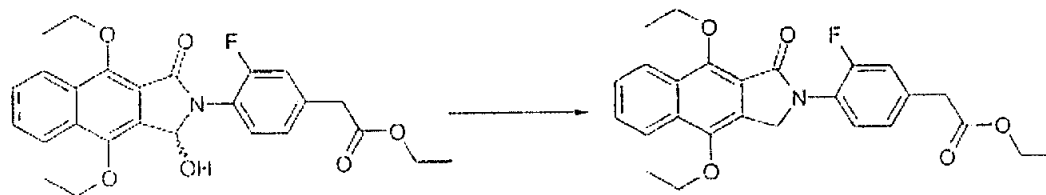
130

Se suspendió {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (24 g, 51,6 mmol) en metanol (75 ml) y tetrahidrofurano (200 ml) y se enfrió a 5 °C en un baño de hielo. Quedó sin disolverse algo del sólido. Se añadió borohidruro de sodio (2 g, 51,6 mmol) en porciones a lo largo de 2 minutos (efervescencia). El sólido que no se había disuelto se disolvió lentamente y el color se aclaró desde pardo oscuro a pardo claro. La LC/MS después de 5 minutos y 30 minutos indicó que no se había completado la reacción. Por tanto, después de 30 minutos, se añadió más borohidruro de sodio (1 g, 26,3 mmol) en una porción (efervescencia). La LC/MS después de otros 30 minutos demostró que no quedaba ningún material de partida. Se concentró la mezcla en vacío para dar un aceite pardo que se sometió a reparto entre acetato de etilo (300 ml) y agua (500 ml). Se extrajo después la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron para dar el compuesto del epígrafe como un sólido pardo (26 g).

LC/MS: $R_t = 3,47$, $[MH]^+$ 468

Descripción 13

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo



20

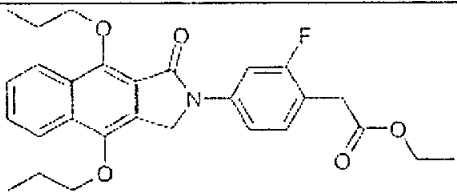
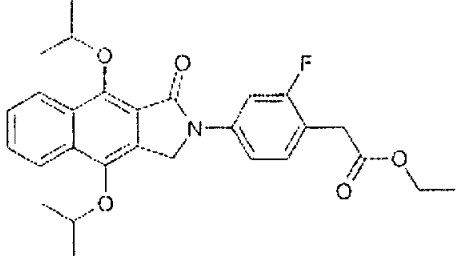
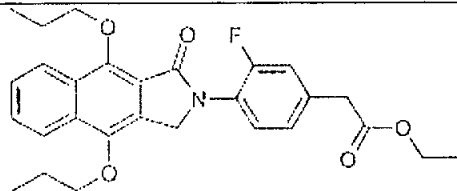
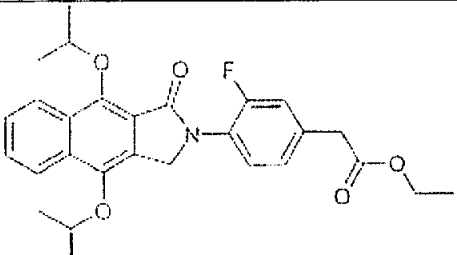
Se disolvió {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo (0,111 g, 0,24 mmol) en ácido trifluoroacético (5 ml) [solución instantánea de color naranja] y se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Se trató gota a gota con trietilsilano (0,06 ml, 0,36 mmol) y se agitó a 0 °C bajo argón. La reacción era completa después de 30-60 minutos. Se evaporó el ácido trifluoroacético para dar un aceite amarillo que se purificó directamente por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo (0-20 %) en hexano durante 30 minutos. Se evaporaron las fracciones hasta una goma incolora, que por tritución con hexano dio un sólido blanco (0,072 g, 0,16 mmol).

LC/MS: $R_t = 3,65$, $[MH]^+$ 452.

30

131

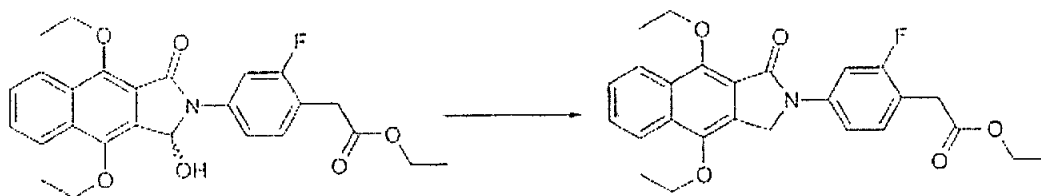
Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar al {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo usando los materiales de partida apropiados.

	Nombre	LC/MS
	{2-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis-(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acetato de etilo	Rt=4,10 [MH] ⁺ 480
	{4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acetato de etilo	Rt=4,10 [MH] ⁺ 480
	{3-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis-(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acetato de etilo	Rt=3,99 [MH] ⁺ 480
	{4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acetato de etilo	Rt=3,87 [MH] ⁺ 480

5

Descripción 14

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo



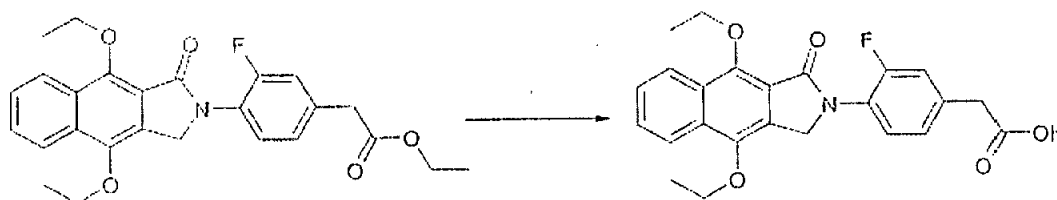
132

Se disolvió {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (aproximadamente 51,6 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) y se enfrió a 0 °C y se añadió TFA (50 ml). Se añadió trietilsilano (12,3 ml, 77 mmol) en una porción para dar una solución parda. Se concentró la solución en vacío para dar un sólido ocre. Éste se recrystalizó en isopropanol caliente (550 ml), se enfrió, se filtró, se lavó con isopropanol, y se secó en una estufa de vacío para dar el compuesto del epígrafe como cristales de color blanco sucio (20,2 g).

LC/MS: Rt = 3,89, [MH]⁺ 452.

Ejemplo 4

10 Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acético



Se suspendió en etanol (2 ml), {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acetato de etilo (0,072 g, 0,16 mmol) y se trató con hidróxido de sodio 2 N (6 ml). Se calentó a reflujo a 100 °C bajo argón durante 1 hora. Por LC/MS se vio que la reacción era completa. Se enfrió la mezcla de reacción y se evaporó el disolvente hasta sequedad. Se añadieron agua y HCl 2 N para acidificar. Se extrajo con acetato de etilo (x2), se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó hasta un sólido que se secó durante la noche en una estufa de vacío para dar el compuesto del epígrafe (0,038 g, 0,09 mmol).

LC/MS: Rt = 3,14, [MH]⁺ 424.

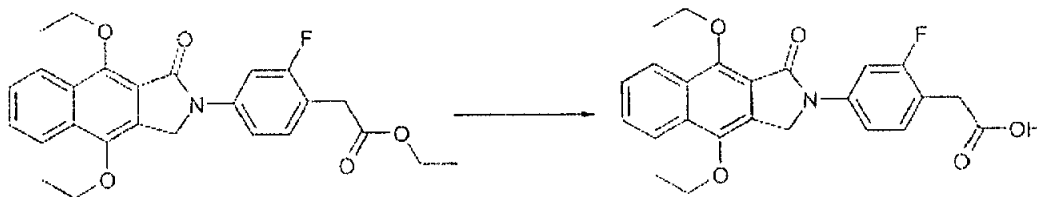
Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar al ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}acético usando los materiales de partida apropiados.

133

Ejemplo		Nombre	LC/MS
Ejemplo 5		Ácido {2-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético	Rt=3,75 [MH] ⁺ 452
Ejemplo 6		Ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético	Rt=3,60 [MH] ⁺ 452
Ejemplo 7		Ácido {3-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético	Rt=3,52 [MH] ⁺ 452
Ejemplo 8		Ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético	Rt=3,36 [MH] ⁺ 452

Ejemplo 9

Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético



5

Se suspendió en etanol (450 ml), {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (20,2 g, 44,8 mmol) y se trató con hidróxido de sodio 2 N (150 ml). Se calentó la mezcla a reflujo durante 1 hora, después se enfrió y se concentró en vacío hasta ~200 ml, y después se acidificó con ácido

134

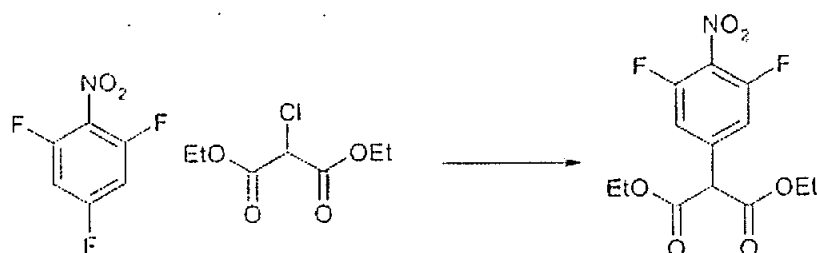
clorhídrico 2 N. Se recogió el sólido blanco por filtración, se lavó con agua (500 ml) y se secó en una estufa de vacío para dar el compuesto del epígrafe como un sólido cremoso (18,45 g, 43,6 mmol).

LC/MS: Rt = 3,35, [MH]⁺ 424.

5 ¹H NMR (DMSO) δ12,49 (1H, br, s), δ8,32 (1H, d, J=8Hz), δ8,19 (1H, d, J=8Hz), δ7,96 (1H, dd, J=13,2Hz), δ7,74 (1H, dd, J=9,2Hz), δ7,71 (1H, t, J=8Hz), δ7,64 (1H, t, J=8Hz), δ7,41 (1H, t, J=9Hz), δ5,19 (2H, s), δ4,39 (2H, q, J=7Hz), δ4,32 (2H, q, J=7Hz), δ3,63 (2H, s), δ1,48 (3H, q, J=7Hz), δ1,46 (3H, q, J=7Hz).

Descripción 15

10 (3,5-Difluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo

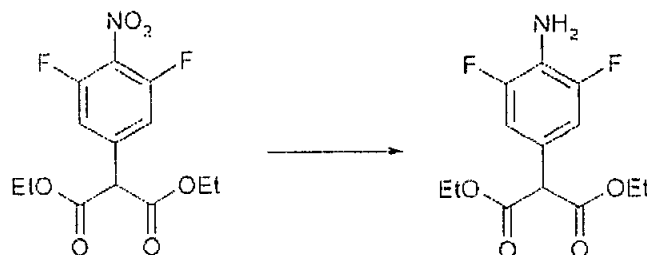


A una solución de 1,3-nitrobenzenceno (3,0 g, 16,95 mmol) y cloropropanodioato de dietilo (3,3 g, 16,95 mmol) en DMF (20 ml) enfriada en un baño de hielo, se añadió hidróxido de sodio triturado (1,36 g, 33,90 mmol) en porciones. Esto dio como resulta-
15 do una solución de color rojo brillante. Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante la noche. Se acidificó después con HCl 2 N (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía eluyendo con acetato de etilo al 5-40 % en hexano. Se evaporaron
20 las fracciones más limpias para dar el compuesto del epígrafe como un sólido amarillo (2,08 g, 6,56 mmol).

LC/MS: Rt = 3,06, [MH]⁺ 318.

Descripción 16

(4-Amino-3,5-difluorofenil)propanodioato de dietilo

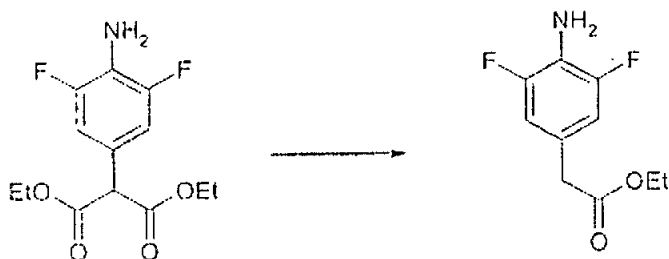


(3)

- Se añadió (3,5-difluoro-4-nitrofenil)propanodioato de dietilo (2,08 g, 6,56 mmol) a etanol (100 ml). Se añadió después paladio al 10 % sobre carbón (pasta húmeda) (0,208 g) bajo una corriente de argón. Se trató con formiato de amonio (2,07 g, 32,80 mmol) y se calentó la reacción a reflujo durante 30 minutos. Una vez enfriada a temperatura ambiente se filtró la mezcla a través de celita y se lavó con etanol. Se evaporó éste hasta un sólido oleoso pardo. Por trituración con DCM se separaron las impurezas insolubles. Se evaporaron los volátiles y después se purificó por cromatografía eluyendo con acetato de etilo al 5-40 % en hexano. Se evaporaron las fracciones limpias para dar el compuesto del epígrafe como un aceite pardo claro (0,774 g, 2,70 mmol).
- LC/MS: Rt = 2,69, [MH]⁺ 288.

Descripción 17

(4-Amino-3,5-difluorofenil)acetato de etilo

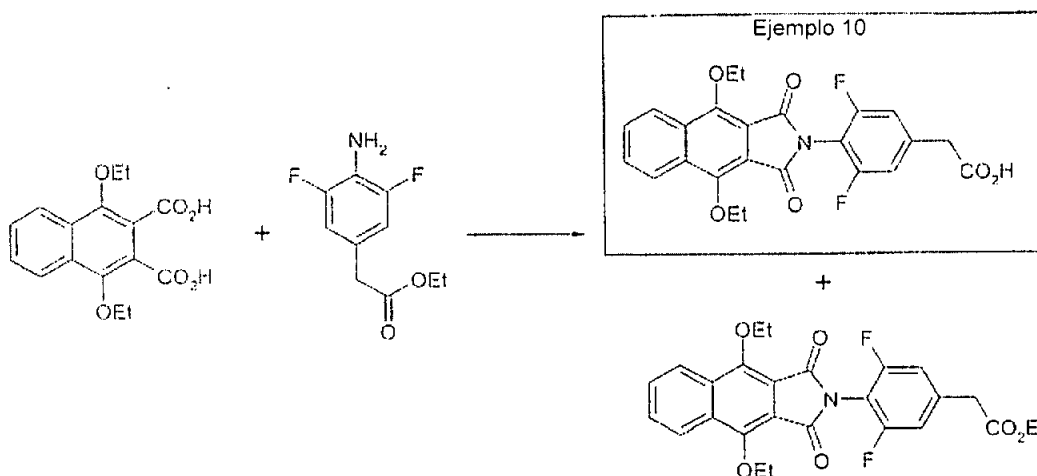


- Se disolvió (4-amino-3,5-difluorofenil)propanodioato de dietilo (0,770 g, 2,68 mmol) en etanol (50 ml) y se trató con hidróxido de sodio (0,107 g, 2,68 mmol) en agua (1,5 ml). Se calentó a 90 °C durante 55 minutos. Se añadió más hidróxido de sodio (0,016 g, 0,40 mmol) a la reacción y se continuó calentando durante 15 minutos. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente y se evaporó. Se acidificó después con HCl 2 N (20 ml) y se extrajo x2 con acetato de etilo (25 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto del epígrafe como un aceite pardo claro (0,610 mg, 2,84 mmol, >100 %).
- LC/MS: Rt = 2,52, [MH]⁺ 216.

Ejemplo 10

Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acético y {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acetato de etilo

176



A una solución de ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico* (0,389 g, 1,28 mmol) en ácido acético (5 ml), se añadió (4-amino-3,5-difluorofenil)acetato de etilo (0,55 g, 2,56 mmol) y DMAP (0,047 g, 0,38 mmol). Se calentó la reacción a 120 °C durante dos días. Se añadió agua (5 ml) a la mezcla y se recogió el sólido cremoso resultante por filtración y se lavó con agua. Se secó en una estufa a vacío. Se purificó la mezcla cruda utilizando cromatografía en fase reversa.

Se reunieron las fracciones más polares para dar dos lotes del ácido, Ejemplo 10, ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acético (0,131 g, 0,29 mmol). LC/MS: Rt = 3,30, [MH]⁺ 456 y (0,05 g, 0,11 mmol). LC/MS: Rt = 3,30, [MH]⁺ 456.

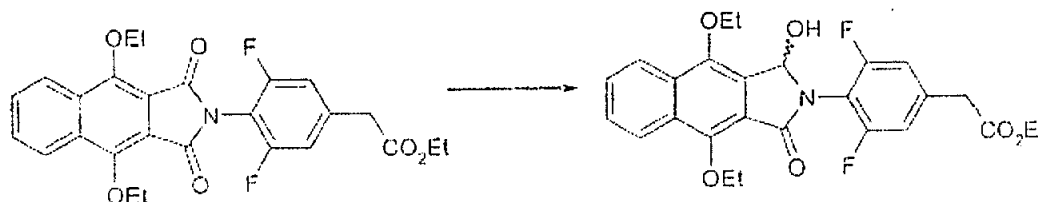
Se reunieron las fracciones menos polares como una mezcla del ácido y del éster etílico. Esta mezcla se evaporó y se purificó utilizando cromatografía en fase normal eluyendo con acetato de etilo al 7-60 % en hexano. Se evaporaron las fracciones para dar dos lotes del éster etílico como un sólido amarillo pálido, {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acetato de etilo (0,172 g, 0,36 mmol). LC/MS: Rt = 3,90, [MH]⁺ 484 y (0,072 g, 0,15 mmol). LC/MS: Rt = 3,72, [MH]⁺ 484.

* El ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico se puede preparar de acuerdo con el método descrito en la Solicitud de patente internacional, Publicación Número WO02/064564.

Descripción 18

137

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acetato de etilo

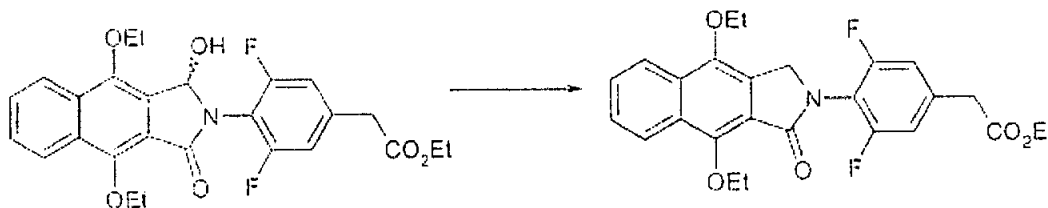


5 A una solución en agitación de {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acetato de etilo (0,240 g, 0,50 mmol) en THF (10 ml) y metanol (5 ml), se añadió borohidruro de sodio (0,019 g, 0,50 mmol) lentamente en atmósfera de argón. Se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos y después se añadieron 0,057 g (1,50 mmol) más de borohidruro de sodio para completar la
10 reacción. Después de 1,5 horas se evaporó la reacción y se sofocó con una solución acuosa de cloruro de amonio. Se extrajo X2 con acetato de etilo (25 ml) y los extractos reunidos se lavaron con salmuera. Se secó después la capa orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó para dar el compuesto del epígrafe como un sólido oleoso amarillo (0,240 g, 0,49 mmol).

15 LC/MS: Rt = 3,42 y 3,46, [MH]⁺ 486.

Descripción 19

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acetato de etilo



20

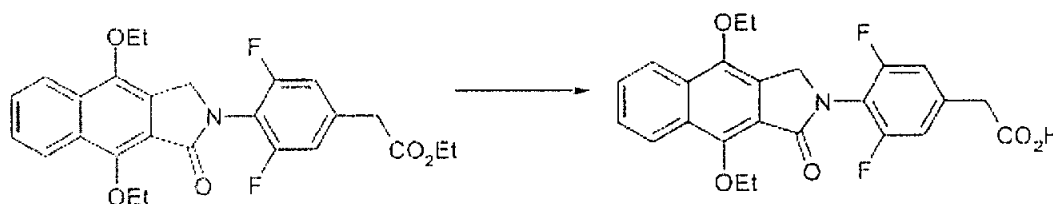
A una solución en agitación de {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}acetato de etilo (0,240 g, 0,495 mmol) en TFA (3 ml) a 0 °C, se añadió trietilsilano (0,118 ml, 0,742 mmol) gota a gota. La solución de color rojo brillante se volvió de color amarillo claro con la adición. Se evaporó la mez-
25 cla y después se purificó por MDAP. Se evaporaron las fracciones para dar un sólido amarillo (0,049 g, 0,10 mmol).

LC/MS: Rt = 3,62, [MH]⁺ 470.

Ejemplo 11

30

Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acético



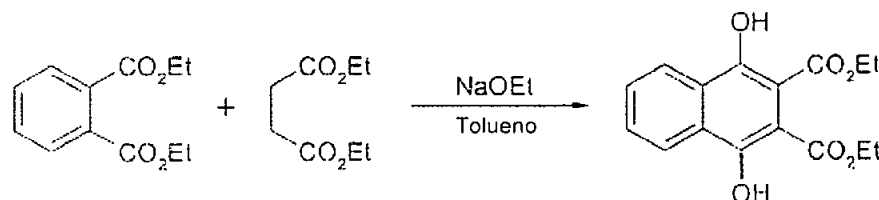
5 A {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acetato de etilo (0,045 g, 0,096 mmol) se añadieron ácido acético (3 ml) y ácido clorhídrico 2 N (3 ml). Se calentó la mezcla a 100 °C durante 1 hora. Se paró el calentamiento y se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se añadió agua y el sólido amarillo resultante se recogió por filtración y se secó en una estufa de vacío. Se purificó por MDAP (gradiente suave). Se evaporó la fracción limpia para dar el compuesto del epígrafe como un compuesto vítreo claro (0,018 g, 0,04 mmol).

LC/MS: Rt = 3,16, [MH]⁺ 442.

El ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético (Ejemplo 9) se preparó también según los siguientes procedimientos.

15 **Etapas 1**

1,4-Dihidroxi-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo



A una suspensión en agitación de etóxido de sodio (95 %, 750 g, 10,2 mol) en tolueno (7,2 litros, destilados azeotrópicamente para separar el agua), se añadió ftalato de dietilo (1513 ml, 7,6 mol) en una atmósfera de nitrógeno. La suspensión resultante se calentó a 70 °C seguido por la adición gota a gota de succinato de dietilo (800 ml, 5,07 mol) a lo largo de un periodo de una hora. Se agitó entonces la mezcla de reacción a 70 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas, haciendo seguimiento del consumo de succinato de dietilo por análisis de TLC (sílice, diclorometano). Se enfrió la mezcla de reacción a 5 °C, se añadió agua (7,2 litros) gota a gota y se agitó la suspensión durante 5 minutos antes de parar la agitación y dejar que se separaran las capas. Se recogió la capa acuosa y se ajustó a pH 4,5 por adición gota a gota de ácido clorhídrico concentrado (~600 ml) a 5 °C*. Se aisló el sólido precipitado por filtración,

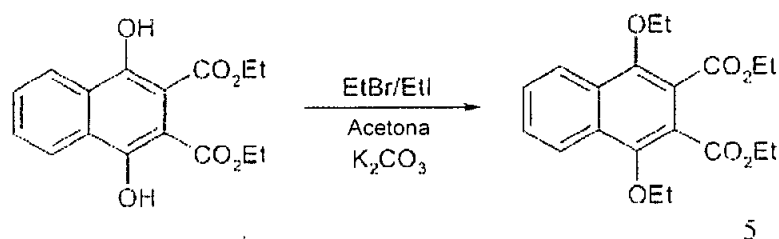
(31)

se lavó con agua (2 litros) y se secó por congelación para dar el producto puro como un sólido amarillo (0,049 g, 34 % de rendimiento).

*La mezcla acuosa debe ser acidificada tan pronto como sea posible para evitar la hidrólisis del producto deseado.

Etapa 2

1,4-Bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo



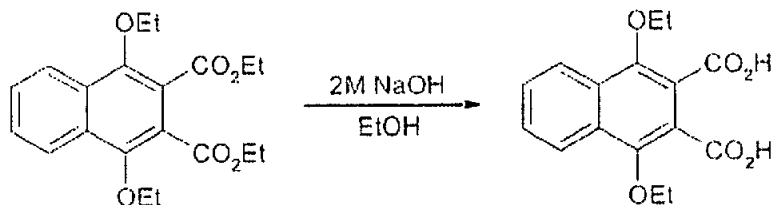
Se agitó una suspensión de carbonato de potasio (1728 g, 12,5 mol) en acetona (11 litros) a 40 °C durante dos horas, y después se dejó enfriar a 20 °C. Se añadieron a la mezcla de reacción 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo (1087 g, 3,57 mol) y bromuro de etilo* (800 ml, 10,7 mol). Esto fue seguido por calentamiento a reflujo durante 18 horas. La espectroscopia ¹H NMR indicó una mono-alquilación predominante por lo que se dejó que se enfriara la mezcla de reacción a ~30 °C, se añadió yoduro de etilo (470 ml, 5,88 mol) y después se calentó la mezcla a reflujo durante 24 horas más. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos inorgánicos se lavaron con acetona (3 litros). Por separación del disolvente de los filtrados reunidos a presión reducida se obtuvo el producto deseado como un sólido de color rojo oscuro (1343 g, rendimiento cuantitativo).

20

*También se puede usar en esta reacción el yoduro de etilo y puede ser preferible a gran escala debido al bajo punto de ebullición del bromuro de etilo.

Etapa 3

Ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico



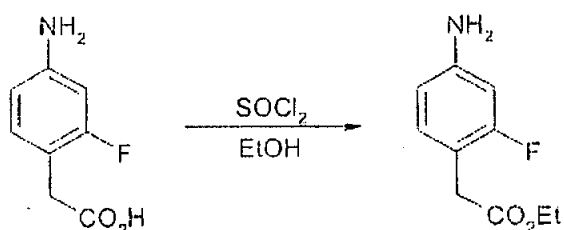
25

140

A una solución en agitación de 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxilato de dietilo (1343 g, 3,73 mol) en etanol (5,5 litros), se añadió solución de hidróxido de sodio 2 M (5,5 l, 11,0 mol). Se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante 8 horas, haciendo seguimiento del progreso de la reacción por espectroscopia ^1H NMR. Se enfrió entonces la mezcla a 0 °C durante 18 horas antes de aislar el sólido cristalizado por filtración, lavando con etanol (5 l) y secando en una estufa de vacío a 60 °C hasta peso constante, con lo que se obtuvo el producto deseado como un sólido blanco (903,7 g, permanece ~11 % de agua determinada por Karl-Fischer, 62 % de rendimiento).

Etapa 4a

10 (4-Amino-2-fluorofenil)acetato de etilo

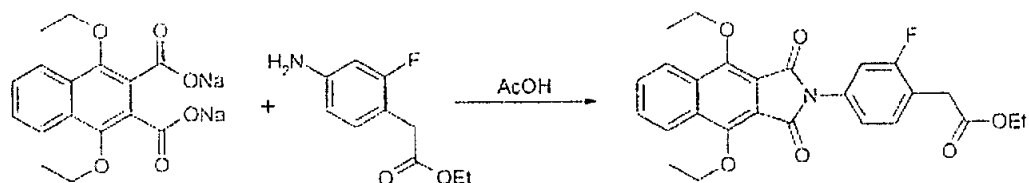


Se añadió cloruro de tionilo (986 ml, 8,51 mol) gota a gota a una suspensión en agitación de ácido 2-(4-amino-2-fluorofenil)acético (960 g, 5,68 mol) en etanol (10 l) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Se calentó después la mezcla de reacción a 40 °C durante 48 horas, haciendo seguimiento del progreso de la reacción por espectroscopia ^1H NMR. Se evaporó la mezcla de reacción a sequedad y se disolvió de nuevo el residuo en una mezcla de diclorometano (8 litros) y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (5 litros). Se añadió más solución de hidrogenocarbonato de sodio (~8 litros) hasta que la fase acuosa se hizo básica. Se separaron las capas y la fase orgánica se lavó con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (4 litros), se secó sobre sulfato de magnesio y se separó el disolvente a presión reducida, con lo que se obtuvo el producto deseado, (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo, como un sólido de color naranja (1042 g, 93 % de rendimiento), que puede cristalizar en reposo.

25 **Etapa 4b**

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo

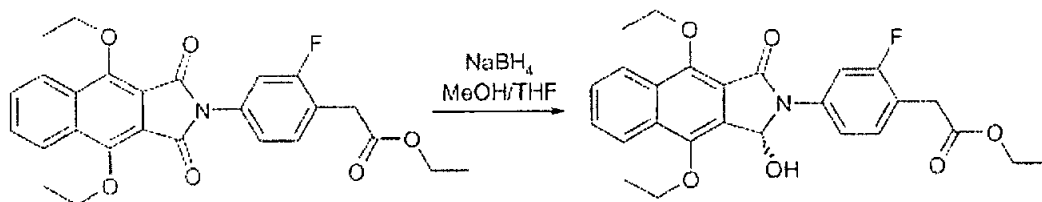
1881



- Una mezcla de la sal de sodio del ácido 1,4-bis(etiloxi)-2,3-naftalendicarboxílico (526 g, 1,51 mol) y (4-amino-2-fluorofenil)acetato de etilo (539 g, 2,73 mol) en ácido acético glacial (5100 ml), se calentó a reflujo durante 6 horas, haciendo seguimiento del progreso de la reacción por espectroscopia ^1H NMR. Se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se agitó durante 18 horas, se diluyó con agua (14 litros) y se agitó durante 30 minutos más. Se aisló el producto por filtración, se lavó con agua (5 l) y se secó en una estufa de vacío para dar el producto deseado como un sólido de color blanco sucio (587 g, 84 % de rendimiento),

Etapa 5a

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo



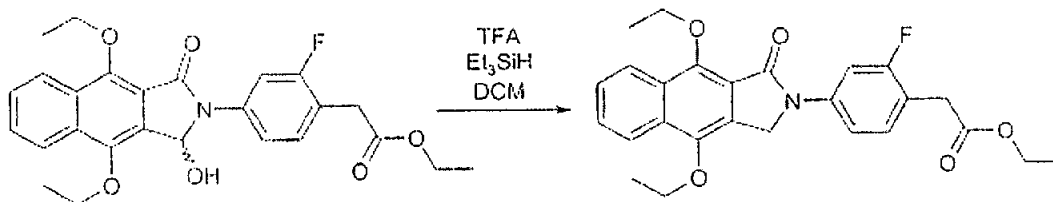
- Se añadió borohidruro de sodio (45 g, 1,19 mol) en porciones a lo largo de 45 minutos, a una suspensión en agitación de {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (542 g, 1,16 mol) en una mezcla de metanol (1,63 l) y tetrahidrofurano (4,34 l) entre -5 y 0°C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante otros 60 minutos a 0°C , se añadieron porciones adicionales de borohidruro de sodio (un total de 25 g, 0,66 mol) hasta que no quedó material de partida observable por análisis de TLC (sílice, hexano:acetato de etilo, 70:30). En este punto, se sofocó la mezcla de reacción por la adición gota a gota de solución saturada de cloruro de amonio (~ 2700 ml) hasta $\sim \text{pH } 9$. Se añadió acetato de etilo (2 l) y se agitó la mezcla durante 5 minutos. Se paró la agitación y se separaron las capas. Se extrajo la fase acuosa con otra porción de acetato de etilo (2×4 l). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera (6 l), se secaron sobre sulfato de magnesio y se filtraron. Se reunió el material con el de otro lote procesado de manera similar y se

ML

evaporó a sequedad. Se disolvió de nuevo el residuo en diclorometano (5 l), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó a sequedad. Se suspendió en alcohol isopropílico (2 l) y se secó disolviendo en DCM (5 l) y evaporando a sequedad tres veces para dar el producto deseado como un sólido de color blanco sucio (929 g, 89 % de rendimiento),

Etapa 5b

{4-[4,9-Bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo



10

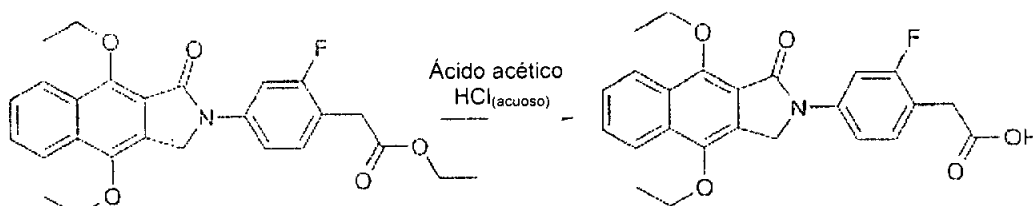
Se añadió ácido trifluoroacético (1900 ml) a una solución en agitación de {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (898 g, 1,92 mol) en diclorometano (1900 ml) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. Se añadió trietilsilano (465 ml, 2,92 mol) gota a gota a la solución de color rojo oscuro asegurando que se mantenía la temperatura por debajo de 3 °C. Se agitó entonces la mezcla de reacción a 0 °C durante 45 minutos, a cuyo tiempo la solución se volvió amarilla y se vio que se había consumido todo el {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-hidroxi-3-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo, por análisis de TLC (sílice, diclorometano:metanol, 99:1). Se evaporó la mezcla de reacción a sequedad a presión reducida, se suspendió en hexano (2 x 2,5 l) y después isopropanol (2,5 l) a 40 °C y se secó a vacío para dar el producto deseado como un sólido blanco (821 g, 95 % de rendimiento).

15

20

Etapa 6a

Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético



25

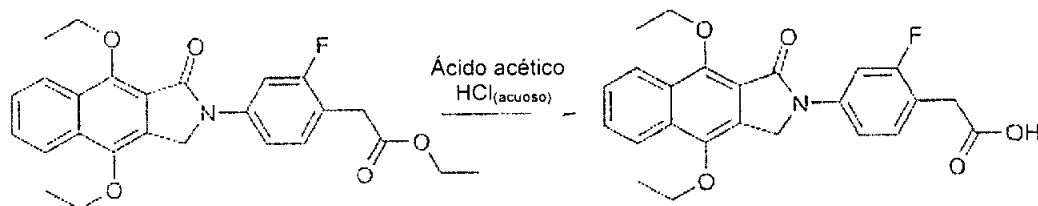
1483

Una suspensión de {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (70,0 g, 155 mmol) en una mezcla de ácido acético glacial (650 ml) y ácido clorhídrico (6 M, 250 ml), se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno, haciendo seguimiento del progreso de la reacción por análisis de TLC (sílice, diclorometano:metanol, 99:1). Después de 60 minutos, se enfrió la mezcla de reacción a 0 °C. Se aisló el sólido precipitado por filtración, se lavó con agua (500 ml), se suspendió en ácido acético glacial (350 ml) a 50 °C y se secó al aire para dar el producto deseado, ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético, como un sólido de color blanco sucio (57,7 g, 88 % de rendimiento).

Durante este procedimiento de reacción, se disolverá todo el sólido, seguido por la precipitación del producto desde la mezcla de reacción después de aproximadamente 30 minutos. Se puede utilizar un pequeño incremento en la relación de ácido acético a ácido clorhídrico para asegurar que los productos de la reacción permanecen en solución desde el principio hasta el fin.

Etapa 6b

Ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético



Una suspensión de {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acetato de etilo (200,0 g, 443 mmol) en una mezcla de ácido acético glacial (2080 ml) y ácido clorhídrico (2 M, 700 ml), se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno, haciendo seguimiento del progreso de la reacción por análisis de TLC (sílice, diclorometano:metanol, 99:1). Después de 60 minutos, se enfrió la mezcla de reacción a 0 °C. Se aisló el sólido precipitado por filtración, se lavó con agua (1400 ml), y se secó por congelación para dar el producto deseado como un sólido de color blanco sucio (163,4 g, 87 % de rendimiento).

El lote final del producto se obtuvo mediante una suspensión en acetato de etilo (83 l) de 5 lotes realizados como anteriormente (peso total, 555 g), después secado por congelación y secado en estufa a 70 °C para dar el producto deseado, ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético como un sólido de color blanco sucio (510,6 g, 82 % de rendimiento para la hidrólisis y suspensión).

Datos biológicos

Ensayo de cAMP *in vitro*

Se realizaron estudios utilizando células HEK-293(T) que expresan el receptor de prostanoideos EP₄ humano recombinante (células HEK-EP₄). Se cultivaron las células como un cultivo monocapa en DMEM-F12/F12 que contiene glutamax II (Gibco) y suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 0,4 mg/ml de 1 G418. Se pre-trataron las células HEK-EP₄ 24 horas y 30 minutos antes del experimento con indometacina 10 µM y se recogieron usando Verseno que contiene indometacina 10 µM. Se volvieron a suspender las células en tampón de ensayo (DMEM:F12, indometacina 10 µM y IBMX 200 µM) a 1 x 10⁶ células por ml y se incubaron durante 20 min a 37 °C. Después, se añadieron 50 µl de células a 50 µl de agonista (compuesto de la fórmula (I)) y se incubaron a 37 °C durante 4 minutos antes de parar las reacciones con 100 µl de tritón X-100 al 1 %. Se determinaron los niveles de cAMP en los lisados celulares usando un ensayo de unión de competición. En este ensayo se midió la capacidad de los lisados celulares para inhibir la unión de 3H-cAMP (Amersham) a la subunidad de unión de la proteína-cinasa A y se calcularon los niveles de cAMP a partir de una curva estándar. Los datos para cada compuesto se expresaron como % de la respuesta a una concentración máxima 10 nM del agonista estándar de la PGE2. Para cada compuesto se calcularon la respuesta máxima y la concentración del compuesto que causa el 50 % de su respuesta máxima. La actividad intrínseca se expresa en relación con la respuesta máxima a la PGE2. A menos que se indique otra cosa, todos los reactivos fueron adquiridos comercialmente de Sigma.

Los Ejemplos de la presente invención se ensayaron en el ensayo mencionado antes y presentaron una media de los valores de pEC₅₀ de 6,8 o más alta, y una media de las actividades intrínsecas de 50 % o más alta. Por ejemplo, el Ejemplo 9 presentó un valor medio de pEC₅₀ de 7,4 y una actividad intrínseca media de 68 % cuando se ensayó en el ensayo mencionado antes (n= 24).

Ensayo *in vivo* – Efecto del ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}acético ('Ejemplo 9') en una asociación a ED₂₀ y una asociación de dosis fija con paracetamol sobre la hipersensibilidad inducida por FCA en la rata

Objetivo del estudio:

Determinar si combinando el Ejemplo 9 y paracetamol a dosis ED₂₀ o como una asociación de dosis fijas se producirá sinergia en la reducción de la hipersensibilidad inducida por FCA establecida.

Métodos:

MS

FCA y lectura de la carga de peso

- Al comienzo del estudio, se tomaron las lecturas de las cargas de peso sin tratamiento. Se midió la hipersensibilidad al dolor usando el analizador de incapacidad en la rata (Linton Instruments).
- 5 • Todas las ratas macho (cepa RH, 180-120 g) recibieron entonces una inyección intraplantar de 100 µl de FCA (coadyuvante completo de Freund) en la pata trasera izquierda. El FCA se había sonicado durante 15 minutos antes de su uso.
- 10 • 24 horas después de la administración del FCA, se tomaron las lecturas pre-tratamiento de las cargas de peso. Todos los animales fueron entonces ordenados y distribuidos aleatoriamente para el tratamiento de acuerdo con su intervalo de FCA (*diferencia en gramos en el pre-tratamiento - diferencia en gramos sin tratamiento*). Las ratas con un intervalo de FCA menor de 30 fueron excluidas del estudio.
- 15 • Los animales recibieron entonces oralmente la dosis según su clasificación y distribución aleatoria. Se llevaron a cabo dos estudios como se indica a continuación:
- En el primer estudio las dosis ED₂₀ de Ejemplo 9 y paracetamol se asociaron usando el siguiente protocolo,
 - 20 (1) Vehículo (metilcelulosa al 1 %) p.o.
 - (2) Paracetamol (60 mg/kg) p.o.*
 - (3) Ejemplo 9 (0,1 mg/kg) p.o.*
 - (4) Ejemplo 9 (0,1 mg/kg) + Paracetamol (60 mg/kg) p.o.**
 - (5) Celecoxib (10 mg/kg) p.o.
- 25 * dosis ED₂₀
** El Ejemplo 9 fue administrado inicialmente seguido por paracetamol 30 minutos más tarde.
- En el segundo estudio se completó una asociación con una relación de dosis fija, de Ejemplo 9 y paracetamol usando el siguiente protocolo,
 - 30 (1) Vehículo (metilcelulosa al 1 %) p.o. + Vehículo (metilcelulosa al 1 %) p.o.
 - (2) Ejemplo 9, 0,003 mg/kg p.o.+ Paracetamol, 1,8 mg/kg p.o.
 - (3) Ejemplo 9, 0,01 mg/kg p.o.+ Paracetamol, 6 mg/kg p.o.
 - (4) Ejemplo 9, 0,03 mg/kg p.o.+ Paracetamol, 18 mg/kg p.o.
 - 35 (5) Ejemplo 9, 0,1 mg/kg p.o.+ Paracetamol, 60 mg/kg p.o.
 - (6) Vehículo (metilcelulosa al 1 %) p.o. + Celecoxib, 10 mg/kg p.o.

11/16

- Los animales se evaluaron en el aparato de la carga de peso 1 hora después de la administración de la dosis de paracetamol.
- El estudio fue ciego y aleatorio mediante el intervalo de FCA usando un método de cuadrados latinos.

5 **Detalles de la preparación**

- Se trituraron todos los compuestos usando un mortero con su mano antes de añadir al vehículo (metilcelulosa al 1 %). El volumen de dosis fue 5 ml/kg.
- Todas las dosis se sonicaron y agitaron antes de la administración.
- En este estudio se ensayó también un control positivo (Celecoxib). Si el control positivo no producía una reducción significativa de la hipersensibilidad inducida por FCA (> 60 %) el experimento no era considerado válido y se repetía el estudio.

10 **Análisis estadístico**

- Los % de las reducciones se calcularon usando los valores sin tratamiento, pre-tratamiento y post-tratamiento como sigue: % reducción = [(pre-tratamiento – post-tratamiento) / (pre-tratamiento – sin tratamiento)] x 100.
- Los gráficos y los valores ED₅₀ se calcularon usando Prism3.
- El análisis estadístico se llevó a cabo usando ANOVA y el test Fischer LSD del programa estadístico Statistica 6.
- Se calculó estadísticamente la sinergia usando el macro de la sinergia. Los valores logED₅₀ y los errores estándares para el estudio de las moléculas individuales y de la asociación se obtienen con Statistica 6 y se ponen en el macro. Se especifica la relación de dosis fija y entonces el macro calcula si la asociación es estadísticamente sinérgica. Compara los datos de la asociación con la adición teórica de los compuestos individuales.

25 **Resultados:**

Porcentaje de la reducción de la hipersensibilidad inducida por FCA establecida:

30 Se demostró una actividad significativa. La reducción de la hipersensibilidad equivalente a una dosis de la máxima eficacia de celecoxib se produjo con asociaciones de dosis bajas de Ejemplo 9 y paracetamol que son ineficaces cuando se administran solas (Figura 1). Se ha demostrado que el efecto observado es sinérgico por naturaleza (Figura 2).

35 Cuando se administra solo a 3 mg/kg en el mismo modelo, el Ejemplo 9 tiene una EC₅₀ de 0,6 µM y produjo de forma ventajosa una reducción del 80 % en la hipersensibilidad inducida por eFCA.

107

El Ejemplo 9 presentó también una semi-vida farmacocinética oral de 7,6 horas en la rata.

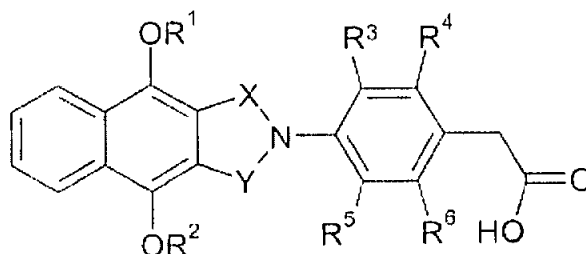
La Figura 1 ilustra el efecto de combinar el Ejemplo 9 (0,1 mg/kg) y paracetamol (60 mg/kg) solos y en asociación sobre la hipersensibilidad inducida por FCA.

5 La Figura 2 ilustra una curva dosis-respuesta aditiva teórica frente a la curva real dosis-respuesta observada para una asociación de Ejemplo 9 + paracetamol.

pat

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables,



5

(I)

en la que,

R^1 y R^2 representan independientemente alquilo C_{1-4} ;

R^3 , R^4 , R^5 y R^6 representan independientemente H o F, con la condición de que, al menos uno de R^3 y R^4 representa H, al menos uno de R^5 y R^6 representa H, y al menos uno de R^3 , R^4 , R^5 y R^6 representa F; y

X e Y representan independientemente CH_2 o $C=O$, con la condición de que al menos uno de X e Y representa $C=O$.

2. Un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1, en el que R^1 y R^2 son iguales y representan alquilo C_{1-4} .

3. Un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1, en el que R^1 y R^2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en etilo, *n*-propilo e *iso*-propilo.

4. Un compuesto de la fórmula (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que tanto X como Y representan $C=O$.

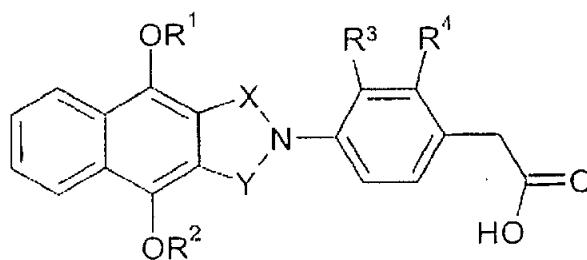
5. Un compuesto de la fórmula (I), según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que R^3 representa F y R^4 , R^5 y R^6 representan H.

6. Un compuesto de la fórmula (I), según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R^4 representa F y R^3 , R^5 y R^6 representan H.

7. Un compuesto de la fórmula (I), según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R^3 y R^5 representan F y R^4 y R^6 representan H.

8. Un compuesto según la reivindicación 1, de la fórmula (IA), o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables,

119



(IA)

en la que,

R¹ y R² representan independientemente alquilo C₁₋₄;

5 R³ y R⁴ representan independientemente H o F, con la condición de que no son iguales; y

X e Y representan independientemente CH₂ o C=O, con la condición de que al menos uno de X e Y representa C=O.

9. Un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

ácido {4-[1,3-dioxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

15 ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

20 ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético;

ácido {2-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético;

ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético;

25 ácido {3-fluoro-4-[1-oxo-4,9-bis(propiloxi)-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]fenil}-acético; y

ácido {4-[4,9-bis(1-metiletoxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3-fluorofenil}-acético;

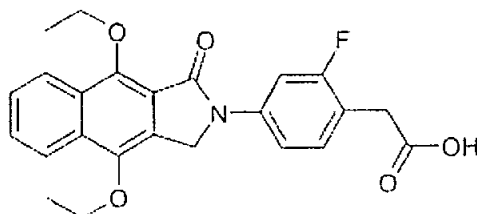
30 ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acético;

14

ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-3,5-difluorofenil}-acético;

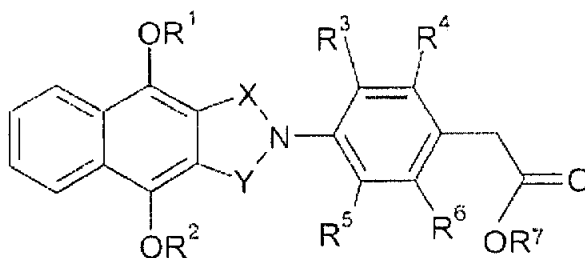
o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

10. El ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético,



o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

11. Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, en el que uno de X e Y representa C=O y el otro representa CH₂ y R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido en la reivindicación 1, cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II),

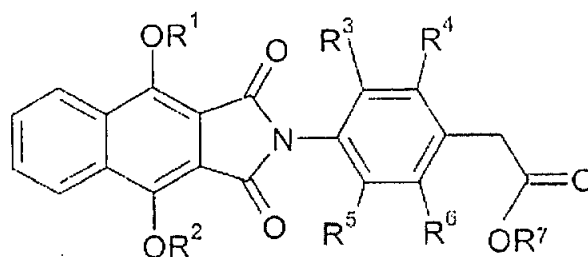


(II)

15 en la que, uno de X e Y representa C=O y el otro representa CH₂; R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido en relación con la fórmula (I); y R⁷ representa alquilo C₁₋₆; con una base adecuada, y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro.

20 12. Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, en el que X e Y representan C=O y R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido en la reivindicación 1, cuyo procedimiento comprende añadir un compuesto de la fórmula (III),

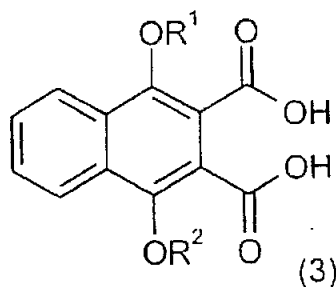
191



(III)

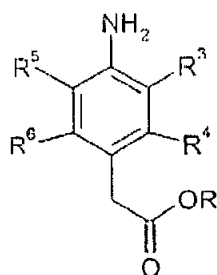
5 en la que, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido en la reivindicación 1; y R^7 representa alquilo C_{1-6} ; a un ácido adecuado o mezcla de ácidos, y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro.

10 13. Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (3),



(3)

con un compuesto de la fórmula (IV),

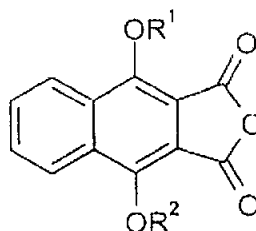


(IV)

15 en las que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido en la reivindicación 1, y R^7 representa H o alquilo C_{1-6} , y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro.

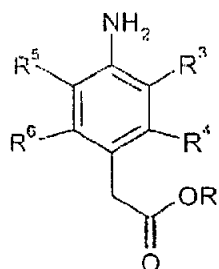
52

14. Un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (4),



(4)

5 con un compuesto de la fórmula (IV),



(IV)

10 en las que R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido en la reivindicación 1, y R¹ representa H o alquilo C₁-₆, y opcionalmente formar después un derivado farmacéuticamente aceptable del compuesto así formado, y/o convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro.

15 15. Un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1, para uso en medicina humana o veterinaria.

16 16. Un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄.

20 17. Un método para tratar a un sujeto humano o animal que sufre una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1.

18. El uso de un compuesto de la fórmula (I), según la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad que está mediada por la acción, o pérdida de acción, de la PGE₂ en los receptores EP₄.

153

19. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables según la reivindicación 1, y un excipiente o diluyente del mismo farmacéuticamente aceptable.

5 20. Una composición farmacéutica según la reivindicación 17, que comprende uno o más agentes terapéuticos adicionales.

21. Una asociación que comprende un agonista del receptor EP₄ o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol.

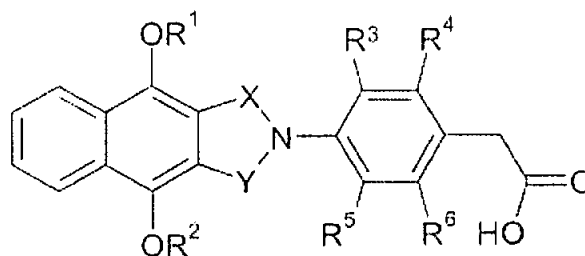
22. Una asociación que comprende un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables según la reivindicación 1, y paracetamol.

10 23. Una asociación según la reivindicación 20, que comprende ácido {4-[4,9-bis(etiloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-2H-benzo[f]isoindol-2-il]-2-fluorofenil}-acético o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y paracetamol.

19/1

Resumen

Un compuesto de la fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables,



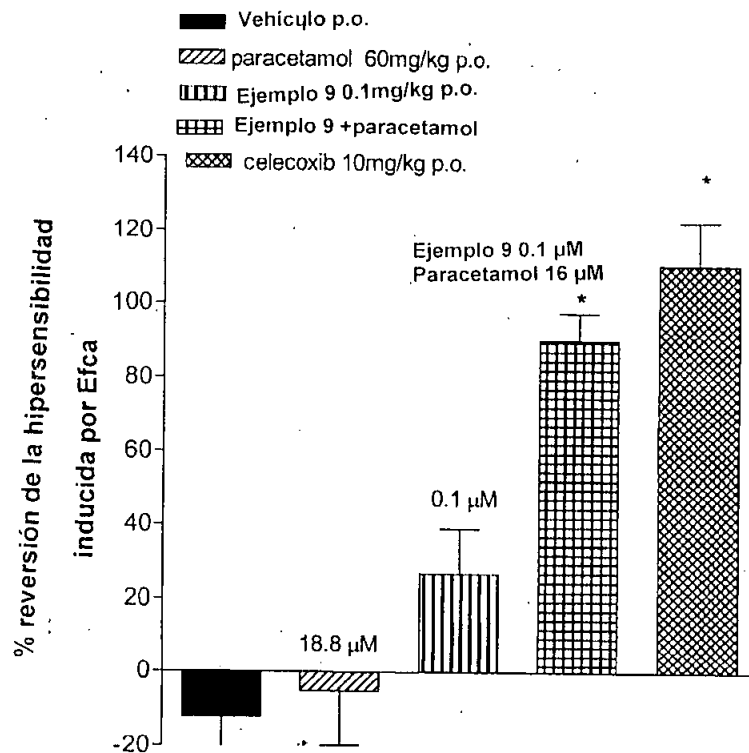
5

(I)

en la que, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, X e Y son como se definen en la memoria descriptiva; un procedimiento para preparar dichos compuestos; una composición farmacéutica que comprende dichos compuestos, y el uso de dichos compuestos en medicina.

10

Figura 1 - Efecto de la combinación del ejemplo 9 (0.1 mg/kg) y de paracetamol (60 mg/kg) solo y en combinación, sobre la hipersensibilidad inducida por FCA.

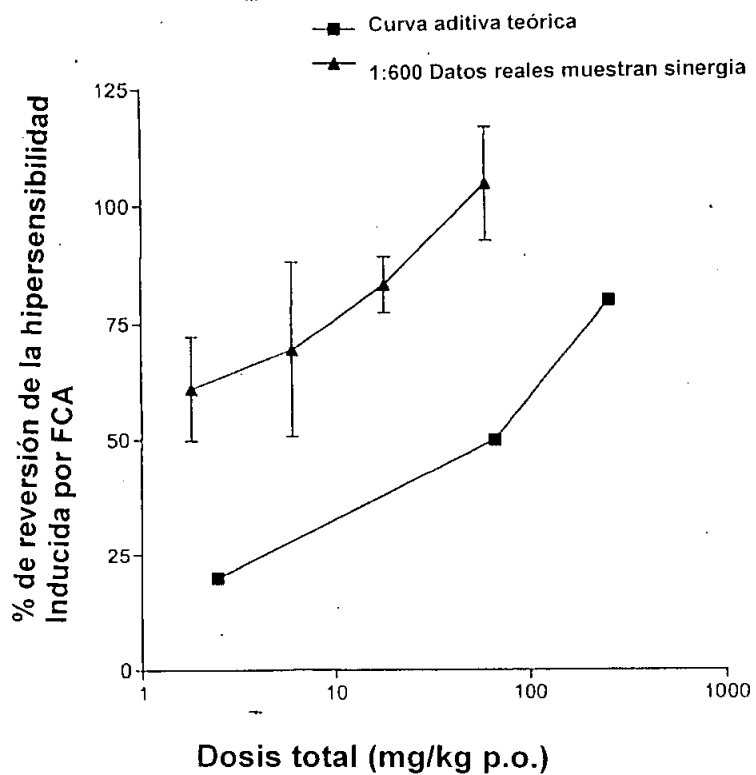


Los datos son representados como la media $\pm$ SEM (n=7 por grupo), y son analizados por ANOVA seguido por un test de Fisher LSD, donde los grupos tratados con el fármaco fueron comparados con el vehículo y los grupos tratados con la combinación fueron comparados con los grupos tratados con el fármaco solo. * indica $p < 0.05$. Concentraciones de sangre terminales.

196

2/2

Figura 2 - Curva dosis respuesta aditiva teórica vs la curva dosis-respuesta real
Observada para la combinación del ejemplo 9+ paracetamol



PATENT COOPERATION TREATY

159

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

GLAXOSMITHKLINE
Attn: King, Lawrence
Corporate Intellectual Property
980 Great West Road
Brentford, Middlesex
TW8 9GS
GRANDE BRETAGNE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

GlaxoSmithKline Corporate IP Received BRENTFORD		Date of mailing (day/month/year) 04/05/2007
Applicant's or agent's file reference LLK/PB61819	08 MAY 2007 ATTY: <i>ML</i>	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/EP2007/050992	IPM: N/A ON UPDATED CASE ATTY CHECKED	International filing date (day/month/year) 01/02/2007
Applicant GLAXO GROUP LIMITED		

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 19:

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 **19 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 19 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) 340-3016	Authorized officer Petronella Elsackers
--	---

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

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 and the written opinion of the International Searching Authority, 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 (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

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 16 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 46.1).

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 46.2).

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 (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.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference LLK/PB61819	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2007/050992	International filing date (day/month/year) 01/02/2007	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 03/02/2006
Applicant GLAXO GROUP LIMITED		

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 4 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
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 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 No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. 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:

BENZO (F) ISOINDOL-2-YLPHENYL ACETIC ACID DERIVATIVES AS EP4 RECEPTOR AGONISTS

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/050992

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07D209/56 A61P19/00	A61K31/41 A61P25/00	A61P3/00 A61P29/00
A61P13/00 A61P37/00	A61P15/00	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/064564 A (GLAXO GROUP LTD [GB]; CONGREVE MILES STUART [GB]; GIBLIN GERARD MARTIN) 22 August 2002 (2002-08-22) page 1; examples 1,4-9,11,14,15,17,19 -----	1-23
A	WO 02/50032 A (GLAXO GROUP LTD [GB]; GIBLIN GERARD MARTIN PAUL [GB]; JONES HAYDN TERE) 27 June 2002 (2002-06-27) the whole document -----	1-23
A	WO 02/50033 A (GLAXO GROUP LTD [GB]; GIBLIN GERARD MARTIN PAUL [GB]; FRYE STEPHEN VER) 27 June 2002 (2002-06-27) the whole document -----	1-23
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family 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 24 April 2007		Date of mailing of the international search report 04/05/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Fritz, Martin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2007/050992

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 claim 17 is 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 compounds.
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 6.4(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/EP2007/050992

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02064564	A	22-08-2002	EP 1368312 A1	10-12-2003
			JP 2004520400 T	08-07-2004
			US 2005080257 A1	14-04-2005

WO 0250032	A	27-06-2002	AU 1621802 A	01-07-2002
			EP 1351934 A1	15-10-2003
			JP 2004517099 T	10-06-2004
			US 2004102508 A1	27-05-2004

WO 0250033	A	27-06-2002	AU 1728702 A	01-07-2002
			EP 1343759 A1	17-09-2003
			JP 2004517847 T	17-06-2004
			US 2004087624 A1	06-05-2004
			US 2006252799 A1	09-11-2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/EP2007/050992

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

 INV. C07D209/56 A61K31/41 A61P3/00 A61P13/00 A61P15/00
 A61P19/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/064564 A (GLAXO GROUP LTD [GB]; CONGREVE MILES STUART [GB]; GIBLIN GERARD MARTIN) 22 August 2002 (2002-08-22) page 1; examples 1,4-9,11,14,15,17,19 -----	1-23
A	WO 02/50032 A (GLAXO GROUP LTD [GB]; GIBLIN GERARD MARTIN PAUL [GB]; JONES HAYDN TERE) 27 June 2002 (2002-06-27) the whole document -----	1-23
A	WO 02/50033 A (GLAXO GROUP LTD [GB]; GIBLIN GERARD MARTIN PAUL [GB]; FRYE STEPHEN VER) 27 June 2002 (2002-06-27) the whole document -----	1-23



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 April 2007

Date of mailing of the international search report

04/05/2007

Name and mailing address of the ISA/

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fritz, Martin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2007/050992

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 claim 17 is 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 compounds.
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 6.4(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/EP2007/050992

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02064564	A	22-08-2002	EP 1368312 A1	10-12-2003
			JP 2004520400 T	08-07-2004
			US 2005080257 A1	14-04-2005
WO 0250032	A	27-06-2002	AU 1621802 A	01-07-2002
			EP 1351934 A1	15-10-2003
			JP 2004517099 T	10-06-2004
			US 2004102508 A1	27-05-2004
WO 0250033	A	27-06-2002	AU 1728702 A	01-07-2002
			EP 1343759 A1	17-09-2003
			JP 2004517847 T	17-06-2004
			US 2004087624 A1	06-05-2004
			US 2006252799 A1	09-11-2006

165

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-079186- -00000-0000
Fecha: 2008-07-30 16:25:35 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 165
SUPERINTENDENCIA

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 ☐

SQUEMA 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 ☐

Edgar Navarro

Firma Responsable

Fecha 30-07-08

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 167

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
DLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
GLAXO GROUP LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	08 79186
	Solicitud internacional	PCT/EP2007/050992
	Fecha inicio fase nacional	03/09/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	6719
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC,

12 SET. 2008

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpall