

Ee

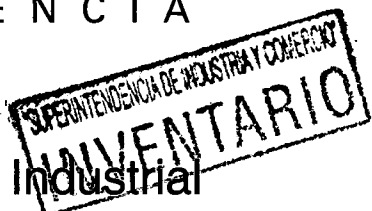


Organización y
Digitalización

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

CF



Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

OK

09-23453

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

UN INHIBIDOR AMINOISOQUINOLINA TROMBINA CON

BIODISPONIBILIDAD MEJORADA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

N. V. ORGANON

DOMICILIO

AB 08S, HOLANDA

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C.0438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-023453- -00000-0000

Fecha: 2009-03-06 17:36:21 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 47

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

☒ Patente de Invención.
☒ Capítulo I.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: N. V. ORGANON
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de Holanda.

Dirección: P. O. Box 20,
Kloosterstraat 6,
5349 AB Oss,
Holanda

Domicilio: Oss,
Holanda

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: EMILIO FERRERO
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____

Número 438.019 T.P 31.929

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. Robert GILFILLAN
c/o Organon Laboratories Ltd.,
New Edinburgh Road,
Lanarkshire,
Newhouse,
Central Scotland ML1 5SH,
Gran Bretaña

2. David Jonathan BENNETT
c/o Organon Laboratories Ltd.,
New Edinburgh Road,
Lanarkshire,
Newhouse,
Central Scotland ML1 5SH,
Gran Bretaña

5

PCT (86)
Solicitud Internacional No. PCT/EP2007/058111
Publicación Internacional No. WO 2008/017650 A1

Fecha: 6 de agosto de 2007
Fecha: 14 de febrero de 2008

6

Título (54)
UN INHIBIDOR AMINOISOQUINOLINA TROMBINA CON BIODISPONIBILIDAD
MEJORADA

7

Clasificación Internacional (51) C07D 401/012

8

Prioridad
SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen
EP

(32) Fecha
8 de agosto de 2006

(31) Número de Solicitud
06118608.6

9

Comprobante de pago No.: 09-16,796

Fecha: 2 de marzo de 2009

10

Anexos:

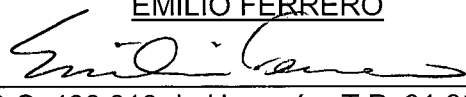
- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 540.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:EMILIO FERRERO**FIRMA :**
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/017650 A1

Descripción:

Páginas 12 en el idioma original

Páginas 16 en español

Reivindicaciones: Número (s) 6

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ **Forma PCT/ISA/237.** Opinión Escrita De La Administración Encargada De La Búsqueda Internacional.

4. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN
LA FASE INTERNACIONAL**

GENERAL POWER OF ATTORNEY

4449 A

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

179

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of- Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER- OF- ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

299
7538

N. V. ORGANON

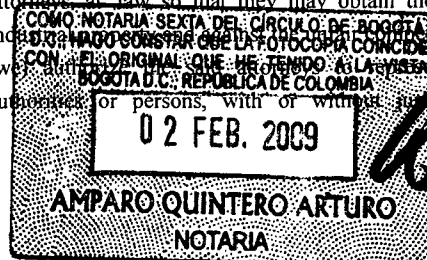
Domiciliado (S) En/Of Kloosterstraat 6, 5349 AB Oss, The Netherlands

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y DANIEL PEÑA, tpa. 65.620, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and DANIEL PEÑA, tpa. 65.620, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first a principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporary or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternate in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombia Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the manner of its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against unfair competition, for which purpose I (we) authorize (authorize) the above-named attorneys to represent me (us) before any entity or persons, with or without jurisdiction, specially those



administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

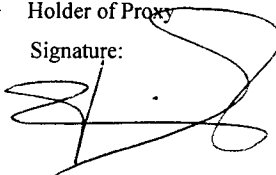
administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of ~~patents~~, utility models and industrial designs; the registration, trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names,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

Dado y firmado hoy/Given and signed this August 22, 2007
in/in Oss, The Netherlands

for/by Dr. P.N.M. Konings

Holder of Proxy

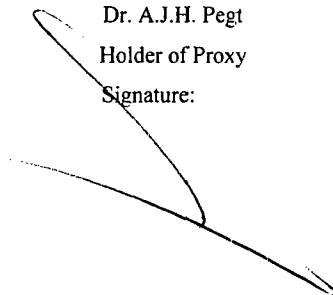
Signature:



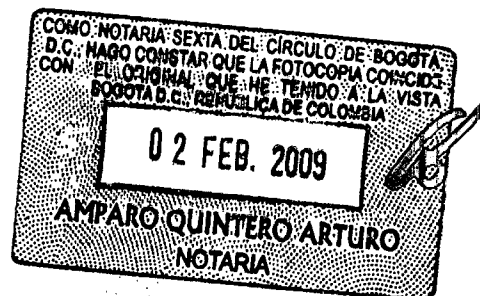
Dr. A.J.H. Pegt

Holder of Proxy

Signature:



Firma N.V. Organon



CERTIFICACION NOTARIAL (SOCIEDAD)

MAKELAAR

El infrascrito Notario/Certifica: Que la firma que antecede de
P.N.M. KONINGS & A.J.H. PEGT

es auténtica; que el signatario^s desempeña actualmente el cargo
de apoderados
de la compañía N.V. Organon

sociedad que actualmente existe y está organizada de acuerdo a
las leyes de Países Bajos

que la dirección de dicha compañía es
Kloosterstraat 6, 5349 AB Oss, Holanda

y que el signatario^s tiene facultad para otorgar este documento.

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los
documentos respectivos y de todo ello da fe.

Dado y firmado en Bussum, Holanda

El 30 Agosto 2007

NOTARIAL CERTIFICATION (COMPANY)

BY "MAKELAAR"

The undersigned ~~Notary~~^{"MAKELAAR"} certifies: That the preceding signature s
of

P.N.M. KONINGS & A.J.H. PEGT

are authentic, that the signatory^{ies} currently act^{ies} in the position of
Holder of Proxy

of the company N.V. Organon

a company currently existing and organized under the laws of
The Netherlands-----

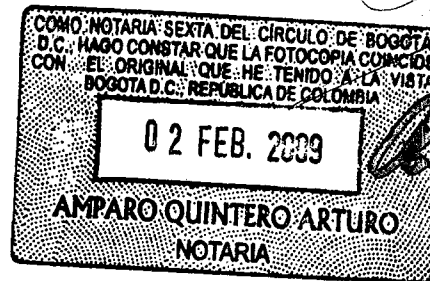
that the address is Kloosterstraat 6, 5349 AB Oss,
The Netherlands

and that the signatory^{ies} has^{ies} the power to grant this document.

"MAKELAAR"
The ~~Notary~~ Public is aware and attests to the above facts upon
examination of the corresponding documents.

Given and signed in Bussum, The Netherlands

On 30 August 2007



APOSTILLE

Convention de La Haye du 5 octobre 1961

1. Pais: LOS PAISES BAJOS
El presente documento público
2. Ha sido firmado por: B.G.H. Pieterse
3. Actuando en calidad de: makelaar in merken en modellen te Bussum
4. Y está revestido del sello/timbre de
B.G.H. Pieterse
Certificado
5. En Amsterdam
6. El día 31 Augustus 2007
7. Certificado por el Secretario Judicial del Tribunal de Distrito Amsterdam
8. Con el no: 033620
9. Sellado/timbrado
10. Firma
mw. H.H.S. Verhagen



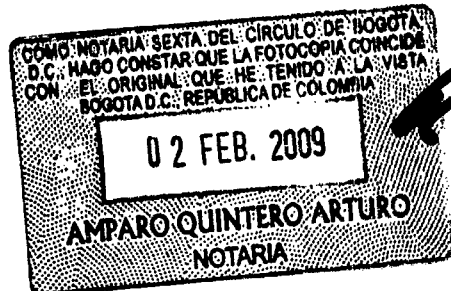
APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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

Certified

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

.....



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
14 February 2008 (14.02.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/017650 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 401/12 (2006.01) A61P 7/00 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2007/058111

(22) International Filing Date: 6 August 2007 (06.08.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
06118608.6 8 August 2006 (08.08.2006) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): N.V.
ORGANON [NL/NL]; P.O. Box 20, Kloosterstraat 6,
NL-5349 AB Oss (NL).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): GILFILLAN,
Robert [GB/GB]; c/o Organon Laboratories Ltd., New
Edinburgh Road, Lanarkshire, Newhouse, Central Scot-
land ML1 5SH (GB). BENNETT, David, Jonathan
[GB/GB]; c/o Organon Laboratories Ltd, New Edinburgh
Road, Lanarkshire, Newhouse, Central Scotland ML1 5SH
(GB).

(74) Agent: VAN WEZENBEEK, P.M.G.F.; P.O. Box 20,
NL-5340 BH Oss (NL).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, 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, MT, 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))

Published:

- with international search report

(54) Title: AN AMINOISOQUINOLINE THROMBIN INHIBITOR WITH IMPROVED BIOAVAILABILITY

(57) Abstract: The invention relates to the compound N-(2-oxo-2-propoxyethyl)-β-phenyl-D-phenyl- alanyl-N-[(1-amino-6-iso-quinoliny)methyl]-L-prolinamide or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to a pharmaceutical composition comprising said compound, as well as to the use of the compound for the manufacture of a medicament for treating or for preventing thrombin mediated diseases.

WO 2008/017650 A1

7

AN AMINOISOQUINOLINE THROMBIN INHIBITOR WITH IMPROVED BIOAVAILABILITY

The invention relates to a thrombin inhibitor comprising an aminoisoquinoline group, a pharmaceutical composition containing the same, as well as to the use of said inhibitor
5 for the manufacture of a medicament for treating and preventing thrombin mediated diseases.

The majority of peptide like thrombin inhibitors that have been reported in the literature contain a basic group in the so called P₁-position (R. Pfau, "*Structure-based design of thrombin inhibitors*", Current Opinion in Drug Discovery & Development, 6, 437-450,
10 2003). Examples of such basic groups include the basic amino acids arginine and lysine, and also guanidines and benzamidines. The basic moiety in these compounds is considered to be essential for antithrombotic activity. However, such highly basic groups are generally protonated at physiological pH and as a consequence such compounds
15 are poorly absorbed across the gastrointestinal tract after oral dosing and have low oral bioavailability.

Therapeutic agents that may be given orally are, in general, greatly preferred and have enhanced commercial potential because of their inherent ease of use.

20

In the International Patent Application WO 98/47876 (Akzo Nobel N.V.) a class of thrombin inhibitors is disclosed having an aminoisoquinoline moiety as a basic group and these compounds have improved transepithelial transport properties.

In particular this patent application exemplifies the compounds N-(carboxymethyl)-D-phenylalanyl-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide (WO98/47876: example
25 77) and N-(carboxymethyl)-D-(4-methoxyphenyl)alanyl-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide (WO98/47876: example 111as), as well as prodrug ester derivatives thereof.

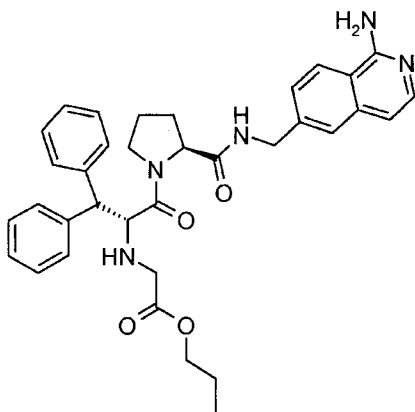
30 It is desirable to develop more highly available thrombin inhibitors, particularly those suitable for oral administration.

The present invention concerns the novel compound N-(2-oxo-2-propoxyethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide, which is highly bioavailable by oral administration.

In another aspect the invention concerns a pharmaceutical formulation comprising N-(2-oxo-2-propoxyethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with a carrier or diluent.

A further aspect of the invention concerns the compound N-(carboxymethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide, which is the selective thrombin inhibitor that is generated *in situ* from N-(2-oxo-2-propoxyethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide following oral administration, and which is of use as an intermediate in the synthesis of the n-propyl-prodrug derivative of the invention.

The compound of the invention N-(2-oxo-2-propoxyethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide is represented by structural Formula **1A**:

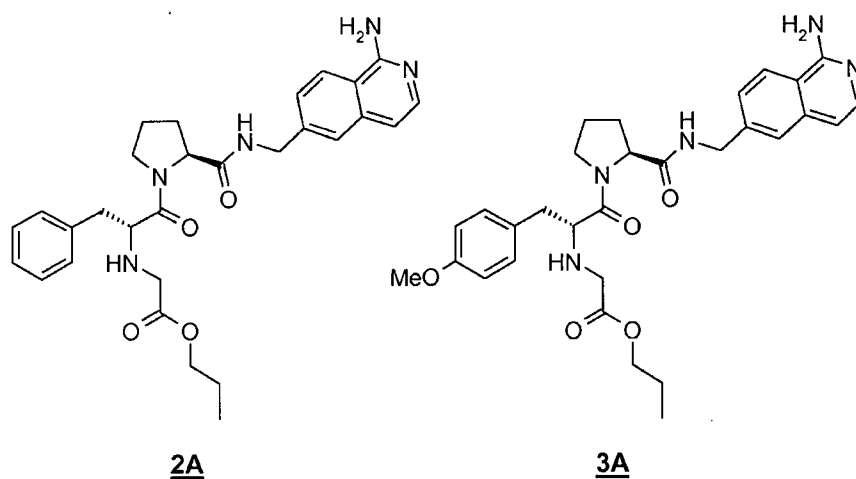


Formula **1A**

It is a discovery of the present invention that the n-propyl-ester derivative **1A** is highly bioavailable upon oral administration as compared to the bioavailability of the corresponding n-propyl ester derivatives of structurally closely related aminoisoquinoline thrombin inhibitors, such as N-(carboxymethyl)-D-phenylalanyl-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide (**2A**) and N-(carboxymethyl)-D-(4-methoxyphenyl)alanyl-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide (**3A**), disclosed in WO 98/4876.

Thus, oral administration of the compound of the invention **1A** results in remarkably high plasma concentrations of the thrombin inhibitor **1B**, the free acid derivative of **1A**, which is promptly generated *in vivo* once in the circulation.

The unexpectedly improved oral activity of the novel diphenylalanine derivative **1A** in comparison with the corresponding phenylalanine derivative **2A** or with the methoxyphenylalanine derivative **3A** allows the development of an antithrombotic agent for oral administration at a relatively low dose.



EXPERIMENTAL

General:

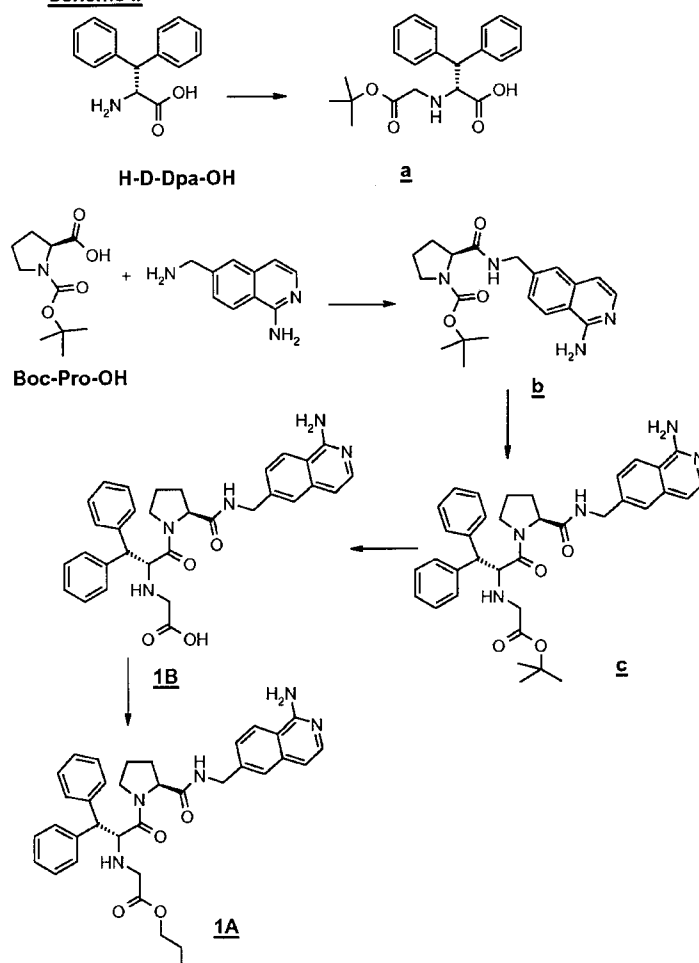
- LC-MS data were acquired on an Applied Biosystems API150EX mass spectrometer.
¹H NMR spectra were recorded on Bruker DPX 400 or DRX 400 spectrometers.

Example 1 (Scheme I):

N-(2-oxo-2-propoxyethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolinyl)methyl]-L-prolinamide (**1A**)

A: N-[2-(1,1-Dimethylethoxy)-2-oxoethyl]-β-phenyl-D-phenylalanine (**a**)

To a stirred mixture of D-diphenylalanine, H-D-Dpa-OH, (20.0 g, 82.9 mmol) and potassium carbonate (17.2 g, 125 mmol) in dioxane/water (1:1 (v/v), 100ml) was added *tert*-butyl bromoacetate (12.2 ml, 83.0 mmol). After stirring overnight water (100ml) was added and the pH adjusted to 5.5 with 0.5M citric acid solution. The resultant precipitate was filtered off, washed with water then diethyl ether and dried under vacuum to give 10.4 g of the title compound **a**.

Scheme I.

B: (S)-2-[[[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]amino]carbonyl]-1-pyrrolidine carboxylic acid 1,1-dimethylethyl ester hydrochloride (**b**)

- 5 To a stirred solution of *N*-*tert*-butoxycarbonyl-L-proline, Boc-Pro-OH, (6.73 g, 31.25 mmol) in anhydrous *N,N*-dimethylformamide (100 ml) under an argon atmosphere was added finely ground 1-amino-6-aminomethylisoquinoline hydrochloride (10.0 g, 40.63 mmol) and *N,N*-diisopropylethylamine (16.17 g, 125.00 mmol). After stirring the slurry for 15 minutes at room temperature 2-(1*H*-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyl-
- 10 uronium hexafluorophosphate (17.67 g, 46.88 mmol) was added, portionwise, over 5 minutes, eventually resulting in complete dissolution of the suspended 1-amino-6-aminomethylisoquinoline hydrochloride. The reaction mixture was stirred at room temperature under an argon atmosphere for a further 90 minutes after which time a yellow precipitate

of (S)-2-[[[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]amino]carbonyl]-1-pyrrolidine carboxylic acid 1,1-dimethylethyl ester hydrochloride (**b**) had formed. The precipitate was collected by filtration, washed with dichloromethane (300 ml) until the filtrate was colourless, and then dried under vacuum to give 7.8 g (56 %) of title compound (94% pure by HPLC - Luna C18(2) 46x30mm, gradient, mobile phase acetonitrile:water, 5-100 %/4 min, constant 0.1% trifluoroacetic acid). Further product was isolated from the filtrate by evaporating under vacuum to remove dimethylformamide and excess diisopropylethyl amine and adding 500ml dichloromethane. The resulting precipitate was removed by filtration, washed with dichloromethane (300 ml) and dried under vacuum to give 4.6 g (33 %) (91 % pure by HPLC - Luna C18(2) 46x30mm, gradient acetonitrile:water, 5-100%/4min, constant 0.1% trifluoroacetic acid).

C: N-[2-(1,1-Dimethylethoxy)-2-oxoethyl]-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide hydrochloride (**c**)

To a suspension of (S)-2-[[[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]amino]carbonyl]-1-pyrrolidine carboxylic acid 1,1-dimethylethyl ester hydrochloride **b** (4.14 g, 9.34 mmol) in dichloromethane (20 ml) was added trifluoroacetic acid (8 ml). After stirring the solution for 2 hours the solvent and excess trifluoroacetic acid were removed *in vacuo*. The residue was then dissolved in N,N-dimethylformamide (41 ml) and 2-(*tert*-butoxycarbonylmethyl-amino)-3,3-diphenyl-propionic acid (Boc-D-Dpa-OH) (3.30 g, 9.3 mmol), 2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (5.31 g, 13.9 mmol) and N,N-diisopropylethylamine (9.75 ml, 56 mmol) were added. The mixture was stirred at room temperature for 1 hour then water added until a precipitate formed. The wet precipitate was collected by filtration then taken up in ethyl acetate, dried (MgSO₄), filtered and evaporated to dryness to give the crude product (7.2 g). Purification by column chromatography (silica, eluting gradient fashion with mixtures of dichloromethane and methanol (0-10%)) gave 4.6 g of the title compound **c** as a gum.

D: N-(carboxymethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide hydrochloride (**1B**)

To a solution of N-[2-(1,1-dimethylethoxy)-2-oxoethyl]-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide hydrochloride **c** (4.6 g, 7.1 mmol) in dichloromethane (25 ml) was added trifluoroacetic acid (4.6 ml). After standing overnight the solution was evaporated to dryness, dissolved in dichloromethane and excess hydrochloric acid in diethyl ether added. The product was precipitated by addition of

anhydrous diethyl ether then collected by filtration and dried under vacuum to give 2.8g. A further 0.8g was obtained by precipitation from the mother liquors.

¹H NMR δ(CD₃OD) 1.32 (m, 1H), 1.83 (m, 3H), 2.86 (m, 1H), 3.53(m, 1H), 3.68 (dd, 2H; J = 17.1Hz), 3.80 (d, 2H; J = 17.1Hz) (4.15 (m, 1H), 4.52 (d, 1H; J = 16.6Hz), 4.59 (d, 1H; J = 11.5Hz), 4.69 (d, 1H; J = 16.1Hz), 5.3 (d, 1H; 11.5Hz), 7.2-7.6 (m, 10H), 7.66 (d, 2H; J = 7.5Hz), 7.72 (dd, 1H; J = 1.5, 8.0Hz), 7.89 (s, 1H), 8.38 (d, 1H; J = 9Hz); MS *m/z* 552.2 (M+H)⁺

E: N-(2-propoxy-2-oxoethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide dihydrochloride (1A)

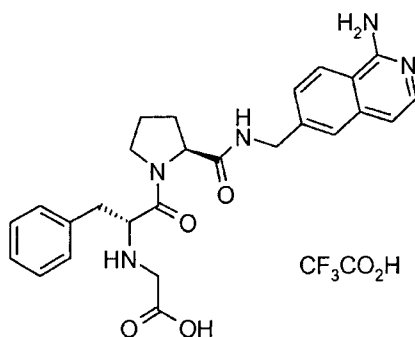
To a suspension of N-(carboxymethyl)-β-phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide hydrochloride (**1B**; 300 mg. 0.5 mmol) in *n*-propanol (5 ml) was added dropwise thionyl chloride (0.4 ml). After stirring for 3 days the solution was diluted with dichloromethane, washed with 5% aqueous sodium bicarbonate solution and evaporated to dryness. The crude product was purified by reverse phase HPLC and then converted to the hydrochloride salt by dissolving in a small amount of methanol and precipitating with 1M hydrochloric acid in diethyl ether. Following addition of further anhydrous diethyl ether the resulting precipitate was collected by filtration and dried under vacuum to give 185 mg of the title compound as a white powder.

¹H NMR δ(CD₃OD) 0.85 (t, 3H; J = 7.5Hz), 1.33 (m, 1H), 1.57 (sext, 2H; J = 7Hz), 1.83 (m, 3H), 2.88 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.73 (d, 1H; J = 17.6Hz), 3.84 (d, 1H; J = 17.6Hz), 4.07 (m, 2H), 4.16 (dd, 1H; J = 5.0, 8.0Hz), 4.53 (d, 1H; J = 16.6Hz), 4.56 (d, 1H; J = 13.6Hz), 4.70 (d, 1H; J = 16.6Hz), 5.20 (d, 1H; J = 11Hz), 7.23-7.44 (m, 7H), 7.50 (t, 2H; J = 7.5Hz), 7.56 (d, 1H; J = 7.0Hz), 7.65 (d, 2H; J = 7.5Hz), 7.72 (dd, 1H; J = 1.5, 8.0Hz), 7.90 (s, 1H), 8.39 (d, 1H; J = 8.5Hz); MS *m/z* 594.4 (M+H)⁺

Using methods similar to those described above and depicted in Scheme I corresponding derivatives were prepared starting from D-phenylalanine or O-methyl-D-tyrosine instead of D-diphenylalanine. Compounds **2B** and **3B** were isolated and used for subsequent testing as trifluoroacetate salts.

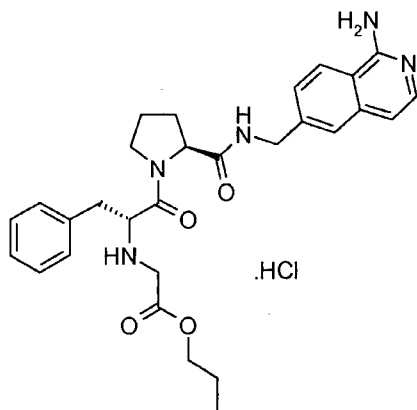
Example 2.

2B: N-(carboxymethyl)-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoly)methyl]-L-prolinamide trifluoroacetate



- 5 ^1H NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$ 1.41 (m, 1H), 1.85 (m, 2H), 1.99 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 3.35 (dd, 1H; J = 5.0, 13.1Hz), 3.40 (dd, 1H; J = 10.6, 13.1Hz), 3.45 (m, 1H), 3.73 (d, 1H; J = 16.6Hz), 3.80 (d, 1H; J = 16.6Hz), 4.34 (dd, 1H; J = 4.5, 8.1Hz), 4.5 (dd, 1H; J = 5.0, 10.6Hz), 4.51 (d, 1H; J = 16.1Hz), 4.72 (d, 1H; J = 16.6Hz), 7.23 (d, 1H; J = 7.1Hz), 7.27-7.43 (m, 5H), 7.52 (d, 1H; J = 7.1Hz), 7.71 (dd, 1H; J = 1.5, 8.6Hz), 7.90 (s, 1H), 8.34 (d, 1H; J = 8.6Hz); MS m/z 476.0 (M+H)⁺
- 10

2A: N-(2-propoxy-2-oxoethyl)-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoly)methyl]-L-prolinamide hydrochloride



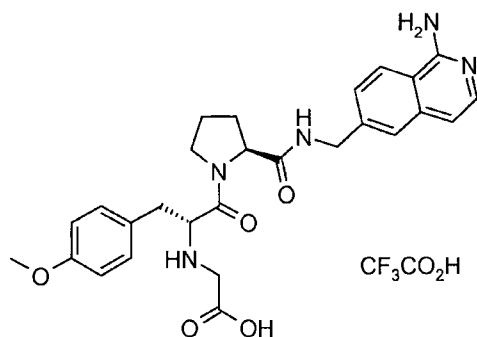
- 15 ^1H NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$ 0.89 (t, 3H; J = 7.6Hz), 1.41 (m, 1H), 1.62 (sext, 2H; J = 7.6Hz), 1.83 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 3.16 (dd, 1H; J = 1.5, 10.6Hz), 3.37 (dd, 1H; J = 5.5, 13.1Hz), 3.47 (m, 1H), 3.93 (d, 1H; J = 17.1Hz), 4.06 (d, 1H; J = 17.1Hz), 4.14 (m, 2H), 4.36 (dd, 1H; 5.0, 9.1Hz), 4.54 (m, 2H), 4.71 (d, 1H; J = 17.1Hz), 7.26 (d, 1H; 7.1Hz),

29

7.29-7.44 (m, 5H), 7.56 (d, 1H; J = 7.1Hz), 7.73 (d, 1H; J = 8.6Hz), 7.92 (s, 1H), 8.38 (d, 1H; J = 8.6Hz); MS m/z 518.2 (M+H)⁺

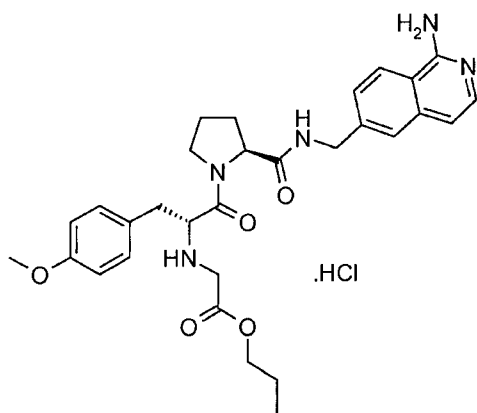
Example 3.

- 5 **3B.** N-(carboxymethyl)-O-methyl-D-tyrosinyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide trifluoroacetate

**3B**

- ¹H NMR δ (CD₃OD) 1.46 (m, 1H), 1.87 (m, 2H), 2.02 (m, 1H), 2.56 (m, 1H), 3.08 (dd, 1H; J = 10.6, 12.6Hz), 3.27 (dd, 1H; J = 5.5, 13.6Hz), 3.47 (m, 1H), 3.71 (d, 1H; J = 16.1Hz),
 10 3.79 (d, 1H; J = 15.6Hz), 3.79 (s, 3H), 4.36 (dd, 1H; J = 4.0, 8.6Hz), 4.46 (dd, 1H; J = 4.0, 8.66Hz), 4.51 (d, 1H; J = 16.6Hz), 4.72 (d, 1H; J = 16.6Hz), 6.92 (d, 2H; J = 8.6Hz), 7.21 (d, 2H; J = 8.6Hz), 7.24 (d, 1H; 7.1Hz), , 7.52 (d, 1H; J = 7.1Hz), 7.71 (d, 1H; J = 8.1Hz), 7.90 (s, 1H), 8.35 (d, 1H; J = 9.1Hz); MS m/z 506.3 (M+H)⁺

- 15 **3A:** N-(2-propoxy-2-oxoethyl)-O-methyl-D-tyrosinyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide hydrochloride

**3A**

- ¹H NMR δ (CD₃OD) 0.88 (t, 3H; J = 7.1Hz), 1.47 (m, 1H), 1.61 (sext, 2H; J = 7.1Hz), 1.86 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 2.54 (m, 1H), 3.10 (dd, 1H; J = 10.6, 15.1Hz), 3.31 (m, 1H), 3.49

(m, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.91 (d, 1H; J = 16.6Hz), 4.04 (d, 1H; J = 16.6Hz), 4.13 (m, 2H), 4.38 (dd, 1H; 5.0, 9.1Hz), 4.48 (dd, 1H; J = 5.0, 10.6Hz), 4.54 (d, 1H; J = 16.1Hz), 4.71 (d, 1H; J = 16.1Hz), 6.93 (d, 2H; J = 8.6Hz), 7.22 (d, 2H; J = 8.6Hz), 7.26 (d, 1H; 7.1Hz), 7.55 (d, 1H; J = 7.1Hz), 7.73 (dd, 1H; J = 2.0, 8.6Hz), 7.92 (s, 1H), 8.38 (d, 1H; J = 8.6Hz); MS m/z 548.3 (M+H)⁺

Example 4: Assay of thrombin activity.

Thrombin inhibitory activity was assessed by pre-incubating the test compound at a variety of concentrations with human α -thrombin at 37°C. After 10min, the chromogenic substrate H-D-Phe-PipecolinyI-Arg-p-nitroanilide (S-2238) was added to the mixture and the change in absorbance measured over the following 8 min. Both **1A** and **1B** were effective inhibitors of human α -thrombin in a concentration-dependent manner, with IC₅₀ values of 13.0 nM and 12.6 nM respectively (both n=5; Figure 1). In further experiments in which the concentration of S-2238 was also varied, plots of [S]/V versus [S] were parallel for each concentration of S-2238 used indicating the competitive nature of the inhibition. Hanes-Woolf analysis of these data provided Ki determinations of 0.9 nM (n=5) for **1B** and 1.0 nM (n=3) for **1A** . A comparison with the activity parameters of compounds **2** and **3** are given in Table 1.

Table 1. Thrombin inhibitory activity parameters

Compound	IC ₅₀ (nM)	Ki (nM)
1A	13.0	1.0
1B	12.6	0.9
2A	573	34.5
2B	864	45.5
3A	197	1.8
3B	358	5.4

Example 5.

Determination of bioavailability of compounds 1A, 2A and 3A in rats.

Animals

- 5 Male Wistar Ola rats (~250 g). Food and water were available ad libitum throughout the studies.

Surgical preparation

- For intravenous pharmacokinetic studies, catheters (Portex polythene - ID 0.58 mm, OD 0.96 mm with a tip made from SF Medical silicone tubing, SFM1- 1350) were inserted
10 into the right jugular vein under isoflurane anaesthesia. The tubing was exteriorised at the back of the neck, filled with heparinised saline (100 IU/ml) and stoppered. Animals were allowed a minimum of 48 h recovery before dosing.

Administration of compounds .

- Compounds **1A**, **2A** and **3A** were administered orally (PO) . Compounds **1B**, **2B** and **3B**
15 were administered intravenously (IV). Serial blood samples (for plasma) were taken from a lateral vein at points from 3 min to 24 hrs (terminal sample by cardiac puncture) according to a matrix design protocol (3 samples per time point). Plasma samples were stored at -20°C until analysis.

Plasma sample analysis

- 20 Plasma samples were analyzed for the pertinent free acid thrombin derivatives **1B**, **2B** and **3B** using an LC-MS method. C_{max} (maximum plasma concentrations) and AUC values were determined from the mean plasma concentration – time profiles.

Experiments.

- 25 The following sets of experiments were carried out:
- Compound **1B** in saline was administered intravenously (IV) to 5 rats at 5 mg/kg base (5 mg/ml solution dosed at 1ml/kg).
 - Compound **1B** in saline was administered orally (PO) to 4 rats at 10 mg/kg base (2 mg/ml solution dosed at 5 ml/kg).
 - 30 - Compound **1A** in 5 % mulgofen/ 95 % saline was administered orally to 5 rats at 10 mg/kg base (2 mg/ml solution dosed at 5 ml/kg).
 - Compound **2B** in saline was administered intravenously to 4 rats at 2 mg/kg base (2 mg/kg dosed at 1 ml/kg).
 - Compound **2A** in saline was administered orally to 4 rats at 10 mg/kg base (2 mg/ml
35 solution dosed at 5 ml/kg).

78

- Compound **3B** in saline was administered intravenously to 4 rats at 2 mg/kg base (2 mg/ml solution dosed at 1ml/kg).
- Compound **3A** in saline was administered orally to 4 rats at 10 mg/kg base (2 mg/ml solution dosed at 5 ml/kg).

5

Results.

Noncompartmental pharmacokinetic analysis was performed using WinNonlin Professional 3.1 and 4.1. The resulting pharmacokinetic parameters are presented in **Table 2.**

10

The bioavailability, expressed as $AUC(IV) / AUC(PO) \times 100 \%$, was found to be very high (58%) for the n-propylester derivative (**1A**) of the diphenylalanine derivative N-(carboxymethyl)- β -phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinolyl)methyl]-L-prolinamide hydrochloride (**1B**) in comparison with the bioavailabilities of the corresponding phenylalanine (**2A**) and p-methoxyphenylalanine (**3A**) thrombin inhibitors.

15

TABLE 2. Pharmacokinetic parameters

Compound	<u>1B^a</u>	<u>1B^b</u>	<u>1B^b</u> following administration of <u>1A</u>	<u>2B</u>	<u>2B</u> following administration of <u>2A</u>	<u>3B</u>	<u>3B</u> following administration of <u>3A</u>
Dose (mg/kg)	5	10	10	2	10	2	10
Route	IV	PO	PO	IV	PO	IV	PO
Vehicle	Saline		mul/sal	saline	saline	saline	Saline
AUC(IV) (ng/ml.h)	4864			659		1008	
T1/2 (h)	0.32			0.61		0.16	
Clearance (ml/min/kg)	17			54		34	
Vss (L/kg)	0.48			2.4		0.46	
C max (ng/ml)		35	2130		4		62
T max (h)		1.2	1		0.067		1.6
AUC(PO) (ng/ml.h)		119	5647		ND		97
Bioavailability (%)		1.3	58 ^b		Negligible		1.9

ND= not determined

a = data is a mean of two studies

b = the bioavailability of 1B following administration of 1A ranged between 30 and 60%, as measured in a number of experiments in Ola Wistar rats differing in the type of vehicle (suspension in gelatine/mannitol or a solution in mannitol/phosphate buffered saline or in 5 % mulgofen/ 95 % saline) used for compound 1A.

19

Claims.

1. The compound N-(2-oxo-2-propoxyethyl)- β -phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
2. The compound of claim 1 as the dihydrochloride salt.
3. A pharmaceutical composition comprising the compound of claim 1 and pharmaceutically acceptable auxiliaries therefor.
4. The compound of claim 1 for use in therapy.
5. Use of the compound of claim 1 for the manufacture of a medicament for treating or for preventing thrombin mediated diseases.
6. The compound N-(carboxymethyl)- β -phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

UN INHIBIDOR AMINOISOQUINOLINA TROMBINA CON BIODISPONIBILIDAD
MEJORADA

La invención se relaciona con un inhibidor trombina que comprende un grupo
5 aminoisoquinolina, una composición farmacéutica que contiene el mismo, así
como también con el uso de dicho inhibidor para la fabricación de un medicamento
para tratar y prevenir enfermedades mediadas por trombina.

La mayoría de inhibidores trombina similares a péptido que se han reportado en la
10 literatura contiene un grupo básico en la llamada posición P₁ (R. Pfau, "Structure-
based design of thrombin inhibitors", Current Opinion in Drug Discovery &
Development, 6, 437-450, 2003). Ejemplos de tales grupos básicos incluyen los
aminoácidos básicos arginina y lisina, y también guanidinas y benzamidinas. El
grupo funcional básico en estos compuestos se considera que es esencial para la
15 actividad antitrombótica. Sin embargo, tales grupos altamente básicos se protonan
generalmente en pH fisiológico y como una consecuencia tales compuestos se
absorben pobremente a lo largo del tracto gastrointestinal después de dosificación
oral y tienen baja biodisponibilidad oral.

20 Los agentes terapéuticos que se pueden suministrar oralmente son, en general,
más preferidos y tienen potencial comercial mejorado debido a su facilidad de uso
inherente.

En la Solicitud de patente internacional WO 98/47876 (Akzo Nobel N.V.) se
25 describe una clase de inhibidores trombina que tienen un grupo funcional
aminoisoquinolina como un grupo básico y estos compuestos han mejorado las
propiedades de transporte transepitelial. En particular esta solicitud de patente

ejemplifica los compuestos N-(carboximetil)-D-fenilalanil-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida (WO98/47876: ejemplo 77) y N-(carboximetil)-D-(4-metoxifenil)alanil-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida (WO98/47876: ejemplo 111as), así como también sus derivados éster profármacos.

5

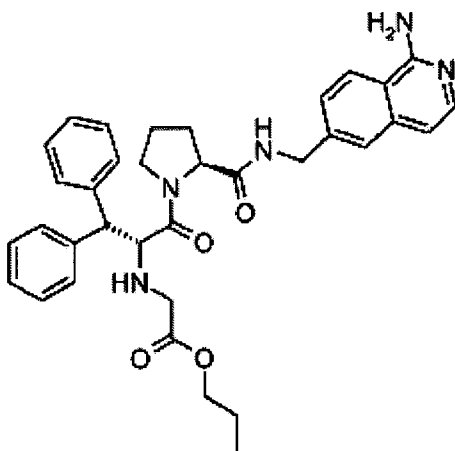
Es deseable desarrollar inhibidores trombina más altamente disponibles, particularmente aquellos adecuados para administración oral.

La presente invención se relaciona con el compuesto novedoso N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida, que es altamente biodisponible mediante administración oral.

En otro aspecto la invención se relaciona con una formulación farmacéutica que comprende N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida, o su sal farmacéuticamente aceptable, en combinación con un portador o diluyente.

Un aspecto adicional de la invención se relaciona con el compuesto N-(carboximetil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida, que es el inhibidor trombina selectivo que se genera in situ a partir de N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida seguido de administración oral, y que es de uso como un intermedio en la síntesis del derivado profármaco n-propilo de la invención.

El compuesto de la invención N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida se representa mediante la Fórmula estructural **1A**:

Fórmula **1A**

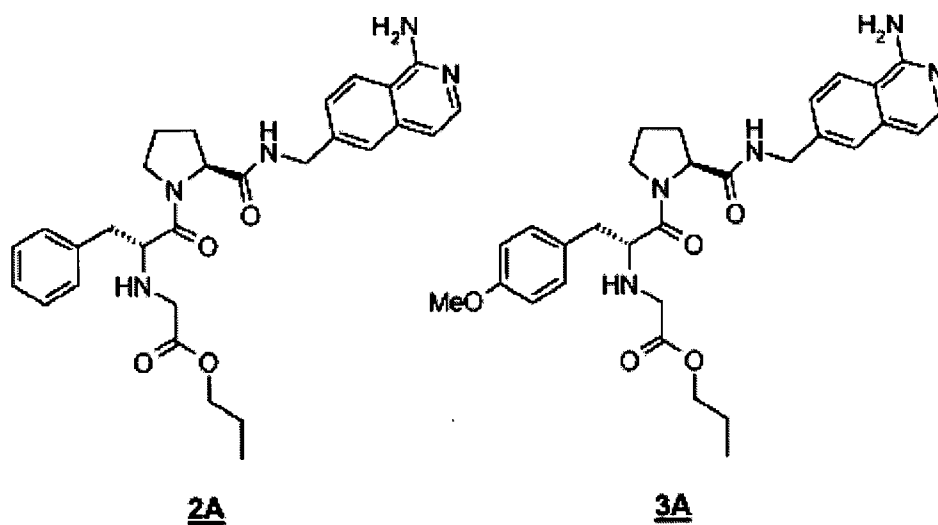
- 5 Es un descubrimiento de la presente invención que el derivado éster n-propilo **1A** altamente biodisponible luego de administración oral cuando se compara con la biodisponibilidad de los derivados éster n-propilo correspondientes de inhibidores aminoisoquinolina trombina cercana y estructuralmente relacionados, tal como N-(carboximetil)-D-fenilalanil-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida (**2A**) y N-
- 10 (carboximetil)-D-(4-metoxifenil)alanil-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida (**3A**), descrito en la WO 98/4876.

Así, la administración oral del compuesto de la invención **1A** resulta en concentraciones de plasma altamente destacadas del inhibidor trombina **1B**, el

15 derivado de ácido libre de **1A**, que se genera inmediatamente in vivo una vez en la circulación.

La actividad oral inesperadamente mejorada del derivado difenilalanina novedoso **1A** en comparación con el derivado fenilalanina correspondiente **2A** o con el

20 derivado metoxifenilalanina **3A** permite el desarrollo de un agente antitrombótico para administración oral en una dosis relativamente baja.



EXPERIMENTAL

5

General:

Los datos LC-MS se adquieren en un espectrómetro de masa Applied Biosystems API 150EX. Se registra el espectro ^1H RMN en los espectrómetros Bruker DPX 400 o DRX 400.

10

Ejemplo 1 (Esquema I):

N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida (**1A**)

15

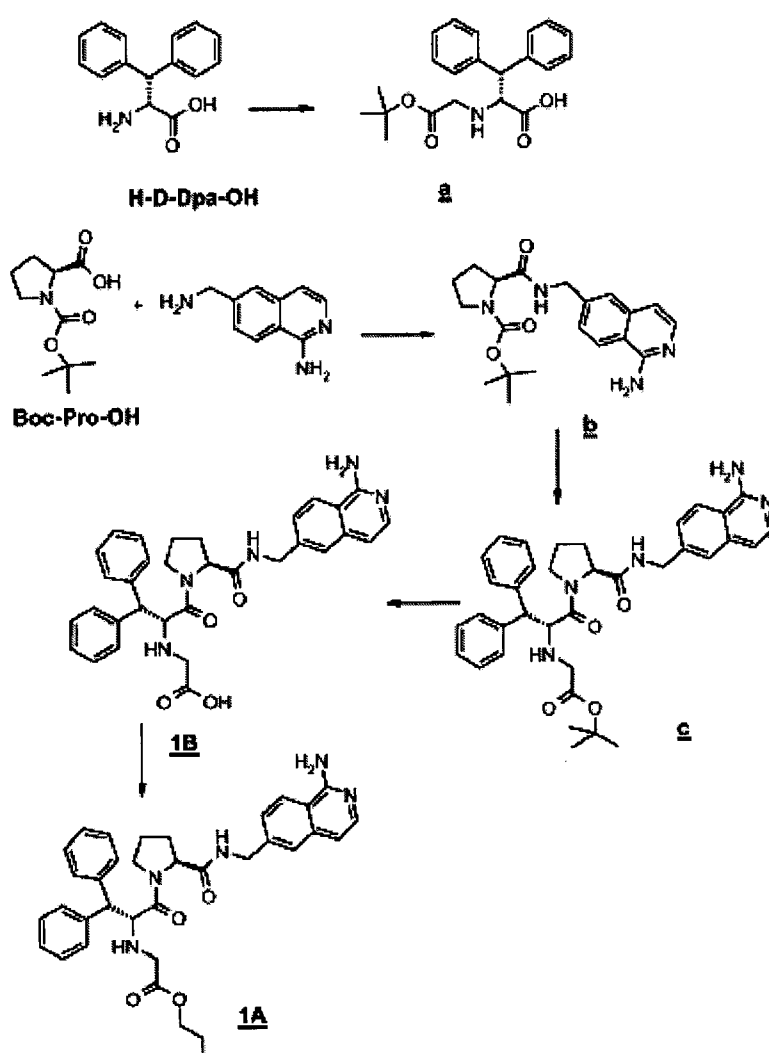
A: N-[2-(1,1-Dimetiletoxi)-2-oxoetil]- β -fenil-D-fenilalanina (a)

A una mezcla agitada de D-difenilalanina, H-D-Dpa-OH, (20.0 g, 82.9 mmol) y carbonato de potasio (17.2 g, 125 mmol) en dioxano/agua (1:1 (v/v), 100ml) se

20

agrega bromoacetato terc-butilo (12.2 ml, 83.0 mmol). Después de agitación durante la noche se agrega agua (100ml) y el pH se ajusta a 5.5 con 0.5M solución de ácido cítrico. El precipitado resultante se filtra, se lava con agua luego con éter de dietilo y se seca bajo vacío para dar 10.4 g del compuesto del título a.

5

Esquema I.

10 B: clorhidrato de éster 1,1-dimetiletilo de ácido (S)-2-[[[(1-amino-6-isoquinolil)metilaminolcarbonil]-1-pirrolidina carboxílico (b)

A una solución agitada de N-terc-butoxicarbonil-L-prolina, Boc-Pro-OH, (6.73 g,

31.25 mmol) en N,N-dimetilformamida anhidra (100 ml) bajo una atmósfera de argón se agrega clorhidrato de 1-amino-6-aminometilisoquinolina finamente molida (10.0 g, 40.63 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (16.17 g, 125.00 mmol). Después de agitar la suspensión durante 15 minutos a temperatura ambiente se agrega

5 hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio (17.67 g, 46.88 mmol), en forma de porciones, durante 5 minutos, que resulta eventualmente en la disolución completa del clorhidrato 1-amino-6-amino-metilisoquinolina suspendido. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente bajo una atmósfera de argón durante 90 minutos adicionales tiempo

10 después del cual se ha formado un precipitado amarillo de clorhidrato de éster 1,1-dimetiletilo de ácido (S)-2-[[[(1-amino-6-isoquinolil)metil]amino]carbonil]-1-pirrolidina carboxílico (b). El precipitado se recolecta mediante filtración, se lava con diclorometano (300 ml) hasta que el filtrado es incoloro, y luego se seca bajo vacío para dar 7.8 g (56 %) del compuesto del título (94% puro mediante HPLC -

15 Luna C18(2) 46x30mm, gradiente, fase móvil acetonitrilo:agua, 5-100 %/4 min, constante 0.1 % ácido trifluoroacético). El producto adicional se aísla del filtrado mediante evaporación bajo vacío para remover la dimetilformamida y el exceso de diisopropiletil amina y se agregan 500ml de diclorometano. El precipitado resultante se remueve mediante filtración, se lava con diclorometano (300 ml) y se

20 seca bajo vacío para dar 4.6 g (33 %) (91 % puro mediante HPLC - Luna C18(2) 46x30mm, gradiente acetonitrilo:agua, 5-100%/4min, constante 0.1 % ácido trifluoroacético).

C: clorhidrato de N-[2-(1,1-Dimetiletoxi)-2-oxoetil]-β-fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-

25 6-isoquinolil]metil]-L-prolinamida (c)

A una suspensión de clorhidrato de éster 1,1-dimetiletilo de ácido (S)-2-[[[(1-

amino-6-isoquinolil)metil]amino]carbonil]-1-pirrolidina carboxílico b (4.14 g, 9.34 mmol) en diclorometano (20 ml) se agrega ácido trifluoroacético (8 ml). Después de agitar la solución durante 2 horas el disolvente y el exceso de ácido trifluoroacético se remueven in vacuo. El residuo luego se disuelve en N,N-dimetilformamida (41 ml) y se agregan ácido 2-(terc-butoxi-carbonilmetil-amino)-3,3-difenil-propiónico (Boc-D-Dpa-OH) (3.30 g, 9.3 mmol), hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (5.31 g, 13.9 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (9.75 ml, 56 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 hora luego se agrega agua hasta que se forma un precipitado. El precipitado húmedo se recolecta mediante filtración luego se coloca en acetato de etilo, se seca (MgSO₄), se filtra y se evapora hasta secado para dar el producto crudo (7.2 g). La purificación mediante cromatografía de columna (sílice, forma de gradiente de elusión con mezclas de diclorometano y metanol (0-10%)) da 4.6 g del compuesto del título c como una goma.

D: clorhidrato de N-(carboximetil)-β-fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida (1B)

A una solución de clorhidrato de N-[2-(1,1-dimetiletoxi)-2-oxoetil]-β-fenil-D-fenilalanil- N -[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida c (4.6 g, 7.1 mmol) en diclorometano (25 ml) se agrega ácido trifluoroacético (4.6 ml). Después de reposar durante la noche la solución se evapora hasta secado, se disuelve en diclorometano y se agrega el exceso de ácido clorhídrico en éter de dietilo. El producto se precipita mediante la adición de éter de dietilo anhidro que luego se recolecta mediante filtración y se seca bajo vacío para dar 2.8g. Se obtiene 0.8g adicional mediante precipitación de licores madre.



^1H RMN δ (CD_3OD) 1.32 (m, 1 H), 1.83 (m, 3H), 2.86 (m, 1 H), 3.53(m, 1 H), 3.68 (dd, 2H; J = 17.1 Hz), 3.80 (d, 2H; J = 17.1 Hz) (4.15 (m, 1 H), 4.52 (d, 1 H; J = 16.6Hz), 4.59 (d, 1 H; J = 11.5Hz), 4.69 (d, 1 H; J = 16.1 Hz), 5.3 (d, 1 H; 11.5Hz), 7.2-7.6 (m, 10H), 7.66 (d, 2H; J = 7.5Hz), 7.72 (dd, 1 H; J = 1.5, 8.0Hz), 7.89 (s, 1 H), 8.38 (d, 1 H; J = 9Hz); MS m/z 552.2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

E: diclorhidrato de N-(2-propoxi-2-oxoetil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida (1A)

10 A una suspensión de clorhidrato de N-(carboximetil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6- isoquinolil)metil]-L-prolinamida (**1B**; 300 mg. 0.5 mmol) en n-propanol (5 ml) se agrega cloruro de tionilo en forma de gotas (0.4 ml). Después de agitar durante 3 días la solución se diluye con diclorometano, se lava con 5% de solución de bicarbonato de sodio acuosa y se evapora hasta secado. El producto crudo se
15 purifica mediante HPLC de fase inversa y luego se convierte a la sal de clorhidrato al disolver en una cantidad pequeña de metanol y precipitar con 1 M de ácido clorhídrico en éter de dietilo. Luego de la adición de éter de dietilo anhidro adicional el precipitado resultante se recolecta mediante filtración y se seca bajo vacío para dar 185 mg del compuesto del título como un polvo blanco.

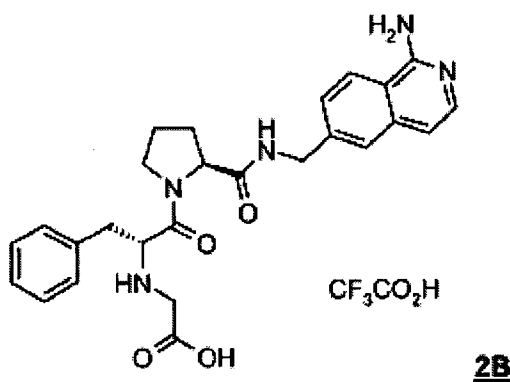
20

^1H RMN δ (CD_3OD) 0.85 (t, 3H; J = 7.5Hz), 1.33 (m, 1 H), 1.57 (sext, 2H; J = 7Hz), 1.83 (m, 3H), 2.88 (m, 1 H), 3.51 (m, 1 H), 3.73 (d, 1 H; J = 17.6Hz), 3.84 (d, 1 H; J = 17.6Hz), 4.07 (m, 2H), 4.16 (dd, 1 H; J = 5.0, 8.0Hz), 4.53 (d, 1 H; J = 16.6Hz), 4.56 (d, 1 H; J = 13.6Hz), 4.70 (d, 1 H; J = 16.6Hz), 5.20 (d, 1 H; J = 11 Hz), 7.23-
25 7.44 (m, 7H), 7.50 (t, 2H; J = 7.5Hz), 7.56 (d, 1 H; J = 7.0Hz), 7.65 (d, 2H; J = 7.5Hz), 7.72 (dd, 1 H; J = 1.5, 8.0Hz), 7.90 (s, 1 H), 8.39 (d, 1 H; J = 8.5Hz); MS m/z 594.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

Utilizando métodos similares a aquellos descritos anteriormente y descritos en el Esquema I se preparan derivados correspondientes partiendo de D-fenilalanina o O-metil-D- tirosina en lugar de D-difenilalanina. Los compuestos 2B y 3B se aíslan y utilizan para prueba posterior como sales trifluoroacetato.

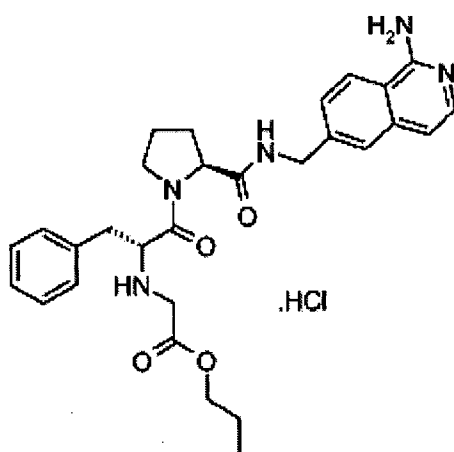
Ejemplo 2.

2B: trifluoroacetato de N-(carboximetil)-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida



^1H RMN δ (CD_3OD) 1.41 (m, 1H), 1.85 (m, 2H), 1.99 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 3.35 (dd, 1H; $J = 5.0, 13.1\text{Hz}$), 3.40 (dd, 1H; $J = 10.6, 13.1\text{Hz}$), 3.45 (m, 1H), 3.73 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 3.80 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 4.34 (dd, 1H; $J = 4.5, 8.1\text{Hz}$), 4.5 (dd, 1H; $J = 5.0, 10.6\text{Hz}$), 4.51 (d, 1H; $J = 16.1\text{Hz}$), 4.72 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 7.23 (d, 1H; $J = 7.1\text{Hz}$), 7.27-7.43 (m, 5H), 7.52 (d, 1H; $J = 7.1\text{Hz}$), 7.71 (dd, 1H; $J = 1.5, 8.6\text{Hz}$), 7.90 (s, 1H), 8.34 (d, 1H; $J = 8.6\text{Hz}$); MS m/z 476.0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

2A: clorhidrato de N-(2-propoxi-2-oxoetil)-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida

**2A**

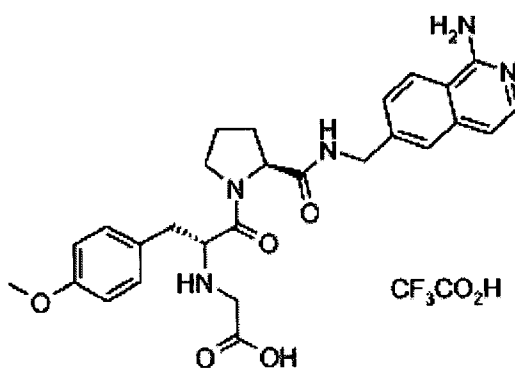
¹H RMN δ (CD₃OD) 0.89 (t, 3H; J = 7.6Hz), 1.41 (m, 1H), 1.62 (sext, 2H; J = 7.6Hz), 1.83 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 3.16 (dd, 1H; J = 1.5, 10.6Hz), 3.37 (dd, 1H; J = 5.5, 13.1Hz), 3.47 (m, 1H), 3.93 (d, 1H; J = 17.1Hz), 4.06 (d, 1H; J = 17.1Hz), 4.14 (m, 2H), 4.36 (dd, 1H; 5.0, 9.1Hz), 4.54 (m, 2H), 4.71 (d, 1H; J = 17.1Hz), 7.26 (d, 1H; 7.1Hz), 7.29-7.44 (m, 5H), 7.56 (d, 1H; J = 7.1Hz), 7.73 (d, 1H; J = 8.6Hz), 7.92 (s, 1H), 8.38 (d, 1 H; J = 8.6Hz); MS m/z 518.2 (M+H)⁺

10

Ejemplo 3.

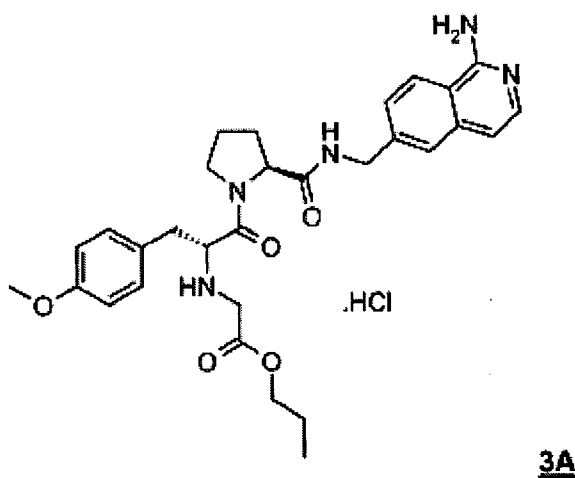
3B. trifluoroacetato de N-(carboximetil)-O-metil-D-tirosinil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L- prolinamida

15

**3B**

^1H RMN δ (CD_3OD) 1.46 (m, 1H), 1.87 (m, 2H), 2.02 (m, 1H), 2.56 (m, 1H), 3.08 (dd, 1H; $J = 10.6, 12.6\text{Hz}$), 3.27 (dd, 1H; $J = 5.5, 13.6\text{Hz}$), 3.47 (m, 1H), 3.71 (d, 1H; $J = 16.1\text{Hz}$), 3.79 (d, 1H; $J = 15.6\text{Hz}$), 3.79 (s, 3H), 4.36 (dd, 1H; $J = 4.0, 8.6\text{Hz}$), 4.46 (dd, 1H; $J = 4.0, 8.66\text{Hz}$), 4.51 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 4.72 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 6.92 (d, 2H; $J = 8.6\text{Hz}$), 7.21 (d, 2H; $J = 8.6\text{Hz}$), 7.24 (d, 1H; $J = 7.1\text{Hz}$), 7.52 (d, 1H; $J = 7.1\text{Hz}$), 7.71 (d, 1H; $J = 8.1\text{Hz}$), 7.90 (s, 1H), 8.35 (d, 1H; $J = 9.1\text{Hz}$); MS m/z 506.3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

10 **3A:** cloridrato de N-(2-propoxi-2-oxoetil)-O-metil-D-tirosinil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida



15 ^1H RMN δ (CD_3OD) 0.88 (t, 3H; $J = 7.1\text{Hz}$), 1.47 (m, 1H), 1.61 (sext, 2H; $J = 7.1\text{Hz}$), 1.86 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 2.54 (m, 1H), 3.10 (dd, 1H; $J = 10.6, 15.1\text{Hz}$), 3.31 (m, 1H), 3.49 (m, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.91 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 4.04 (d, 1H; $J = 16.6\text{Hz}$), 4.13 (m, 2H), 4.38 (dd, 1H; $J = 5.0, 9.1\text{Hz}$), 4.48 (dd, 1H; $J = 5.0, 10.6\text{Hz}$), 4.54 (d, 1H; $J = 16.1\text{Hz}$), 4.71 (d, 1H; $J = 16.1\text{Hz}$), 6.93 (d, 2H; $J = 8.6\text{Hz}$), 7.22 (d, 2H; $J = 8.6\text{Hz}$), 7.26 (d, 1H; $J = 7.1\text{Hz}$), 7.55 (d, 1H; $J = 7.1\text{Hz}$), 7.73 (dd, 1H; $J = 2.0, 8.6\text{Hz}$), 7.92 (s, 1H), 8.38 (d, 1H; $J = 8.6\text{Hz}$); MS m/z 548.3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

20

Ejemplo 4: Ensayo de actividad trombina.

Se ensaya la actividad inhibidora trombina al pre-incubar el compuesto de prueba en una variedad de concentraciones con α -trombina humana a 37°C. Después de 10min, el sustrato cromogénico H-D-Phe-Pipecolinil-Arg-p-nitroanilida (S-2238) se agrega a la mezcla y el cambio en la medición de adsorbancia se mide durante los siguientes 8 min. El **1A** y **1B** son inhibidores efectivos de α -trombina humana en una forma dependiente de concentración, con los valores IC₅₀ de 13.0 nM y 12.6 nM respectivamente (n=5; Figura 1). En experimentos adicionales en los que la concentración de S-2238 también varía, gráficas de [S]A/ versus [S] son paralelas para cada concentración de S-2238 utilizada que indica la naturaleza competitiva de la inhibición. El análisis Hanes-Woolf de estos datos proporciona las determinaciones Ki de 0.9 nM (n=5) para **1B** y 1.0 nM (n=3) para **1A**. Una comparación con los parámetros de actividad de los compuestos 2 y 3 se dan en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros de la actividad inhibidora trombina

Compuesto	IC ₅₀ (nM)	Ki (nM)
1A	13.0	1.0
1B	12.6	0.9
2A	573	34.5
2B	864	45.5
3A	197	1.8
3B	358	5.4

Ejemplo 5.

Determinación de la biodisponibilidad de compuestos **1A**, **2A** y **3A** en ratas.

Animales

5

Ratas Wistar Ola hembras (~250 g). Tienen agua y alimento ad libitum a lo largo de los estudios.

Preparación quirúrgica

10

Para estudios farmacocinéticos intravenosos, se insertan catéteres (Portex polythene - ID 0.58 mm, OD 0.96 mm con una punta hecha de tubo de silicona médica SF, los SFM1- 1350) dentro de la vena yugular derecha bajo anestesia isoflurano. El tubo se exterioriza del lomo a la nuca, se llena con solución salina heparinizada (100 IU/ml) y se tapona. A los animales se les permite un mínimo de 15 48 h de recuperación antes de dosificación.

Administración de compuestos.

20 Los compuestos **1A**, **2A** y **3A** se administran oralmente (PO). Los compuestos **1B**, **2B** y **3B** se administran intravenosamente (IV). Las muestras de sangre seriales (para plasma) se toman de una vena lateral en los puntos de 3 min a 24 hrs (muestra terminal mediante punción cardíaca) de acuerdo con un protocolo de diseño de matriz (3 muestras por punto de tiempo). Se almacenan muestras de 25 plasma a -20° C hasta análisis.

Análisis de muestra de plasma

Se analizan las muestras de plasma para los derivados de trombina de ácido libre pertinentes **1B**, **2B** y **3B** utilizando un método LC-MS. Los valores $C_{\max}$ (concentraciones de plasma máximas) y AUC se determinan de los perfiles de tiempo de la concentración media del plasma.

5

Experimentos.

Se llevan a cabo los siguientes conjuntos de experimentos:

10 - Compuesto **1B** en solución salina se administra intravenosamente (IV) a 5 ratas en base 5 mg/kg (5 mg/ml de dosis de solución a 1 ml/kg).

- Compuesto **1B** en solución salina se administra oralmente (PO) a 4 ratas en base 10 mg/kg (2 mg/ml de dosis de solución a 5 ml/kg).

15

- Compuesto **1A** en 5 % mulgofeno/ 95 % solución salina se administra oralmente a 5 ratas en base 10 mg/kg (2 mg/ml de dosis de solución a 5 ml/kg).

20 - Compuesto **2B** en solución salina se administra intravenosamente a 4 ratas en base 2 mg/kg (2 mg/kg dosis a 1 ml/kg).

- Compuesto **2A** en solución salina se administra oralmente a 4 ratas en base 10 mg/kg (2 mg/ml de dosis de solución a 5 ml/kg).

25 - Compuesto **3B** en solución salina se administra intravenosamente a 4 ratas en base 2 mg/kg (2 mg/ml de dosis de solución a 1 ml/kg).

- Compuesto **3A** en solución salina se administra oralmente a 4 ratas en base 10 mg/kg (2 mg/ml de dosis de solución a 5 ml/kg).

Resultados.

5

Se desarrolla análisis farmacocinético no compartimental utilizando WinNonlin Professional 3.1 y 4.1. Los parámetros farmacocinéticos resultantes se presentan en la **Tabla 2**.

10 La biodisponibilidad, expresada como $AUC(IV) / AUC(PO) \times 100 \%$, se encuentra que es muy alta (58%) para el derivado n-propiléster (**1A**) del derivado difenilalanina de clorhidrato de N-(carboximetil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolil)metil]-L-prolinamida (**1B**) en comparación con las biodisponibilidades de la fenilalanina correspondiente (**2A**) e inhibidores trombina p-metoxifenilalanina

15 (**3A**).

TABLA 2. Parámetros farmacocinéticos

Compuesto	<u>1B^a</u>	<u>1B^b</u>	<u>1B^b</u> Luego de administración de <u>1A</u>	<u>2B</u>	<u>2B</u> Luego de administración de <u>2A</u>	<u>3B</u>	<u>3B</u> Luego de administración de <u>3A</u>
Dosis (mg/kg)	5	10	10	2	10	2	10
Ruta	IV	PO	PO	IV	PO	IV	PO
Vehículo	Solución salina		Mut/sal	Solución salina	Solución salina	Solución salina	Solución salina
AUC (IV) (ng/ml.h)	4864			659		1008	
T1/2 (h)	0.32			0.61		0.16	
Depuración (ml/min/kg)	17			54		34	
Vss (L/kg)	0.48			2.4		0.46	
C max (ng/ml)		35	2130		4		62
T max (h)		1.2	1		0.067		1.6
AUC (PO) (ng/ml.h)		119	5647		N/D		97
Biodisponibilidad (%)		1.3	58 ^b		Insignificante		1.9

ND= no determinado

a = los datos son una media de dos estudios

b = la biodisponibilidad de 1B luego de la administración de 1A varía entre 30 y 60%, como se mide en un número de experimentos en ratas

Ola Wistar que difieren del tipo de vehículo (suspensión en gelatina/manitol o una solución en manitol/solución salina amortiguada con

fosfato o en 5 % mulgofen/ 95 % solución salina) utilizado para el compuesto 1A.

35



REIVINDICACIONES

1. El compuesto N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida o su sal farmacéuticamente aceptable.
2. El compuesto de la reivindicación 1 como la sal diclorhidrato.
3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 y sus auxiliares farmacéuticamente aceptables.
4. El compuesto de la reivindicación 1 para uso en terapia.
5. Uso del compuesto de la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para tratar o para prevenir enfermedades mediadas por trombina.
6. El compuesto N-(carboximetil)- β -fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida o su sal farmacéuticamente aceptable.

UN INHIBIDOR AMINOISOQUINOLINA TROMBINA CON BIODISPONIBILIDAD**MEJORADA****RESUMEN**

La invención se relaciona con el compuesto N-(2-oxo-2-propoxietil)- β -fenil-D-fenil-alanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida o su sal farmacéuticamente aceptable, con una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto, así como también con el uso del compuesto para la fabricación de un medicamento para tratar o para prevenir enfermedades mediadas por trombina.

38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/058111

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D401/12 A61K31/435 A61P7/00		
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.
A	WO 98/47876 A (AKZO NOBEL NV [NL]; BOECKEL CONSTANT ADRIAAN ANTON [NL]; GALEN PHILIPP) 29 October 1998 (1998-10-29) cited in the application cf. ex. 77, 111as the whole document -----	1-6
☐ 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. *G* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 October 2007		Date of mailing of the international search report 19/10/2007
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/EP2007/058111

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9847876	A	29-10-1998	AU 7648698 A 13-11-1998
			CA 2287558 A1 29-10-1998
			JP 2001523240 T 20-11-2001
			TW 228123 B 21-02-2005
			US 6194409 B1 27-02-2001
			US 6444672 B1 03-09-2002
			US 6432955 B1 13-08-2002
			ZA 9803176 A 21-10-1998

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY
(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44bis)

Applicant's or agent's file reference 2006.941_WO	FOR FURTHER ACTION		See item 4 below
International application No. PCT/EP2007/058111	International filing date (day/month/year) 06 August 2007 (06.08.2007)	Priority date (day/month/year) 08 August 2006 (08.08.2006)	
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237			
Applicant N.V. ORGANON			

1. This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 bis.1(a).

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.

3. This report contains indications relating to the following items:

☒ Box No. I	Basis of the report
☐ Box No. II	Priority
☐ Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
☐ Box No. IV	Lack of unity of invention
☒ Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
☐ Box No. VI	Certain documents cited
☐ Box No. VII	Certain defects in the international application
☐ Box No. VIII	Certain observations on the international application

4. The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44bis.3(c) and 93bis.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44bis .2).

	Date of issuance of this report 10 February 2009 (10.02.2009)
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Yolaine Cussac
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: pt05.pct@wipo.int

PATENT COOPERATION TREATY

4 1

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference see form PCT/ISA/220		FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below	
International application No. PCT/EP2007/058111	International filing date (day/month/year) 06.08.2007	Priority date (day/month/year) 08.08.2006	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC INV. C07D401/12 A61K31/435 A61P7/00			
Applicant N.V. ORGANON			

1. This opinion contains indications relating to the following items:
- ☒ Box No. I Basis of the opinion
 - ☐ Box No. II Priority
 - ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
 - ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
 - ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
 - ☐ Box No. VI Certain documents cited
 - ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
 - ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:  European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Date of completion of this opinion see form PCT/ISA/210	Authorized Officer Fritz, Martin Telephone No. +31 70 340-3024
--	--	--



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2007/058111

4/2

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ 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)).

2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material:

- ☐ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material:

- ☐ on paper
- ☐ in electronic form

c. time of filing/furnishing:

- ☐ contained in the international application as filed.
- ☐ filed together with the international application in electronic form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

4. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2007/058111

43

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-6</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-6</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-6</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item V

Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

D1: WO 98/47876 A (AKZO NOBEL NV [NL]; BOECKEL CONSTANT ADRIAAN ANTON [NL]; GALEN PHILIPP) 29 October 1998 (1998-10-29) cited in the application

The present application relates to the prodrug compound N-(2-oxo-2-propoxyethyl)- β -phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide (formula 1A) (claims 1-2), pharmaceutical compositions thereof (claim 3), this compound for use in therapy (claim 4), its use for the preparation of a medicament (claim 5) as well as the active substance N-(carboxymethyl)- β -phenyl-D-phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide (formula 1B) which is an intermediate in the synthesis of IA (claim 6).

The compound IA according to the present case can be distinguished from the prodrug compound according to ex. 77 of D1 (formula 2A) and its active substance (formula 2B) (which are used for the same medical purpose) by the presence of the β -phenyl group. The compound 111as according to D1 is structurally more remote, as the D-phenyl group of this known substance is further substituted by a p-methoxy group.

The active substance N-(carboxymethyl)- β -phenyl-D-Phenylalanyl-N-[(1-amino-6-isoquinoliny)methyl]-L-prolinamide is not known in the art.

The subject-matter of claims 1-6 is therefore novel in the sense of Article 33(2) PCT.

Closest prior art is D1.

The problem underlying the present application was to provide 1-amino-6-isoquinoliny derivatives that are suitable as thrombin inhibitors.

This problem has been solved, as was shown in the description.

It has furthermore been shown by comparative tests, that both the compound IA and IB of

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/EP2007/058111

the present case unexpectedly show an oral bioavailability which is much higher than that of the compounds with the maximum structural similarity (which are the prodrug compound according to ex. 77 of D1 and the active substance of formula 2B).

This finding was corroborated by comparison of IA and IB with the compounds according to ex. 111as of D1 (3A) and its active substance (3B) which are structurally more remote (vide supra).

An inventive step in the sense of Article 33(3) PCT can therefore be acknowledged for the subject-matter of claims 1-6.

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 401/012	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) N. V. ORGANON	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 06118608.6	(32) Fecha 08/08/2006	(33) País EP
		(72) Inventor(es) ROBERT GILFILLAN DAVID JONATHAN BENNETT	
		(74) Apoderado: EMILIO FERRERO	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 08/03/2009		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 14/02/2008
	Fecha de presentación de la solicitud: 06/08/2007		N° publicación: WO 2008/017650 A1
	No. de solicitud PCT/EP2007/058111		
(54) Titulo: UN INHIBIDOR AMINOISOQUINOLINA TROMBINA CON BIODISPONIBILIDAD MEJORADA			

Reivindicación(es):

1. El compuesto N-(2-oxo-2-propoxietil)-β-fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6-isoquinolinil)metil]-L-prolinamida o su sal farmacéuticamente aceptable.
2. El compuesto de la reivindicación 1 como la sal diclorhidrato.
3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 y sus auxiliares farmacéuticamente aceptables.
4. El compuesto de la reivindicación 1 para uso en terapia.
5. Uso del compuesto de la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para tratar o para prevenir enfermedades mediadas por trombina.
6. El compuesto N-(carboximetil)-β-fenil-D-fenilalanil-N-[(1-amino-6- isoquinolinil)metil]-L-prolinamida o su sal farmacéuticamente aceptable.

47

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-023453- -00000-0000

Fecha: 2009-03-06 17:36:21 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 47

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 16,796
FECHA : MARZO 2 DE 2009

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	19779045	02/03/2009	49,796,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL :	\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Cdo 00299-841-030-8



Industria y Comercio
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 []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fed

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-023453- -00000-0000

Fecha: 2009-03-06 17:36:21 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 47

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
N.V. ORGANON

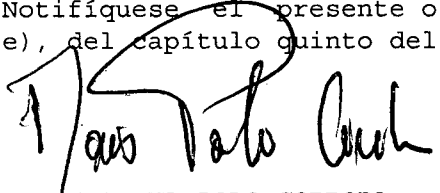
REFERENCIA	Radicación No.	09 23453
	Solicitud internacional	PCT/EP2007/058111
	Fecha inicio fase nacional	08/03/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	3445

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


DORIS ELENA POLO CORDOBA
Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 20 MAR. 2009
adpall