

Brigard & Castro
Abogados

Apartado 3692

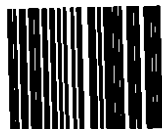
Cra. 7 16-56
Bogotá - Colombia S.A.

Tel. Conn. 3802200
Tel./Fax: (57.1) 2827976
(57.1) 3802700

E.Mail:bricas@brigardycastro.com.co

AS: 04.484

Señores
SUPERINTENDENCIA
DIVISION DE NUEVAS
E. S. D.



00 97282

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00097282 00000001 Folios: 59
Y Fecha (M/R): 2001-06-15 17:18:53
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 329 COMPLEMEN
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PUZ= PATENT.
22-04-2001

REF: Expediente No.00 097.282 - Solicitud de Patente
a favor de: **AstraZeneca AB**
Titulada: **COMPUESTOS QUIMICOS**

RAMIRO CASTRO DUQUE, vecino de Bogotá, portador de la tarjeta profesional No. 1003, obrando como apoderado de la sociedad **AstraZeneca AB**, me permito anexar al presente escrito los siguientes documentos:

1. Copia certificada por la Oficina de Británica de Patentes de la primera solicitud presentada para la misma invención, de la cual **REIVINDICAMOS PRIORIDAD**, junto con su correspondiente traducción del inglés al castellano.

Del señor Jefe atentamente,

RAMIRO CASTRO DUQUE
C.C. No. 170.322 de Bogotá
Código 340
Cra 7a. No. 16-56 Piso 9

Bogotá, Junio 15, 2001
CPB/hr.



04484



The Patent Office
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

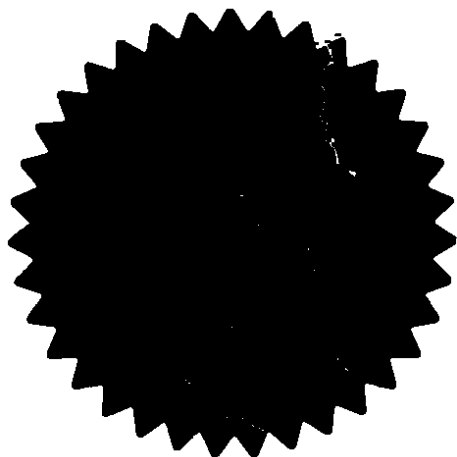
I, the undersigned, being an officer duly authorised in accordance with Section 74(1) and (4) of the Deregulation & Contracting Out Act 1994, to sign and issue certificates on behalf of the Comptroller-General, hereby certify that annexed hereto is a true copy of the documents as originally filed in connection with the patent application identified therein.

I also certify that by virtue of an assignment registered under the Patents Act 1977, the application is now proceeding in the name as substituted.

In accordance with the Patents (Companies Re-registration) Rules 1982, if a company named in this certificate and any accompanying documents has re-registered under the Companies Act 1980 with the same name as that with which it was registered immediately before re-registration save for the substitution as, or inclusion as, the last part of the name of the words "public limited company" or their equivalents in Welsh, references to the name of the company in this certificate and any accompanying documents shall be treated as references to the name with which it is so re-registered.

In accordance with the rules, the words "public limited company" may be replaced by p.l.c., plc, P.L.C. or PLC.

Re-registration under the Companies Act does not constitute a new legal entity but merely subjects the company to certain additional company law rules.



Signed *P. Mahone*
Dated 10 November 2000

An Executive Agency of the Department of Trade and Industry

66
A 65

GB9930318.2

By virtue of a direction given under Section of the Patents Act 1977, the application is proceeding in the name of

ASTRAZENECA UK LIMITED
Incorporated in the United Kingdom
15 Stanhope Gate
LONDON
W1Y 6LN
United Kingdom

[ADP No. 07810294001]

22 DEC 1999

FILE 97

23 DEC 99 15:01:55-4 30293-
POL/7700 0.00-997:318.2

Request for grant of a patent

(See the notes on the back of this form. You can also get an explanatory leaflet from the Patent Office to help you fill in this form)

The Patent Office

Cardiff Road
Newport

Gwent NP9 1RH

1. Your reference PHM99-155

2. Patent at
(The Patent) **9930318.2**

22 DEC 1999

3. Full name, address and postcode of the or of each applicant (underline all surnames)

Zeneca Limited
15 Stanhope Gate
LONDON N1 7PL
Great Britain

SECTION 30(1)(b) APPLICATION FILED 9/3/00

Patents ADP number (if you know it)

6254007002

If the applicant is a corporate body, give the country/state of its incorporation

4. Title of the invention NOVEL COMPOUNDS

5. Name of your agent (if you have one)

BROWN, Andrew Stephen

"Address for service" in the United Kingdom to which all correspondence should be sent (including the postcode)

Global Intellectual Property
AstraZeneca PLC
Mereside, Alderley Park
Macclesfield Cheshire SK10 4TG
Great Britain

Patents ADP number (if you know it)

7259252.002

6. If you are declaring priority from one or more earlier patent applications, give the country and the date of filing of the or of each of these earlier applications and (if you know it) the or each application number

Country

Priority application number
(if you know it)

Date of filing
(day / month / year)

7. If this application is divided or otherwise derived from an earlier UK application, give the number and the filing date of the earlier application

Number of earlier application

Date of filing
(day / month / year)

8. Is a statement of inventorship and of right to grant of a patent required in support of this request? (Answer 'Yes' if:

- a) any applicant named in part 3 is not an inventor, or
- b) there is an inventor who is not named as an applicant, or

See notes (1/77)

Patents Form 1/77

Following marks your application as a first-class document
Do not count copies of the same document

Continuation sheets of this form

Description

35

Claim(s)

Abstract

Drawing(s)

3 + 3

10. If you are also filing any of the following,
state how many against each item.

Priority documents

Translations of priority documents

Statement of inventorship and right
to grant of a patent (*Patents Form 7/77*)

Request for preliminary examination
and search (*Patents Form 9/77*)

Request for substantive examination
(*Patents Form 10/77*)

Any other documents
(*please specify*)

11.

I/We request the grant of a patent on the basis of this application.

Signature

Lynda M Slack

Date

21 Dec 99

12. Name and daytime telephone number of
person to contact in the United Kingdom

MRS LYNDA M SLACK - 01625 516173

Warning

After an application for a patent has been filed, the Comptroller of the Patent Office will consider whether publication or communication of the invention should be prohibited or restricted under Section 22 of the Patents Act 1977. You will be informed if it is necessary to prohibit or restrict your invention in this way. Furthermore, if you live in the United Kingdom, Section 23 of the Patents Act 1977 stops you from applying for a patent abroad without first getting written permission from the Patent Office unless an application has been filed at least 6 weeks beforehand in the United Kingdom for a patent for the same invention and either no direction prohibiting publication or communication has been given, or any such direction has been revoked.

Notes

- a) If you need help to fill in this form or you have any questions, please contact the Patent Office on 0645 500505.
- b) Write your answers in capital letters using black ink or you may type them.
- c) If there is not enough space for all the relevant details on any part of this form, please continue on a separate sheet of paper and write "see continuation sheet" in the relevant part(s). Any continuation sheet should be attached to this form.
- d) If you have answered 'Yes' Patents Form 7/77 will need to be filed.
- e) Once you have filled in the form you must remember to sign and date it.

Patents Form 1/77

NOVEL COMPOUNDS

This invention relates to compounds that inhibit farnesylation of mutant ras gene products through inhibition of the enzyme farnesyl-protein transferase (FPTase). The invention also relates to methods of manufacturing the compounds, pharmaceutical compositions and methods of treating diseases, especially cancer, which are mediated through farnesylation of ras.

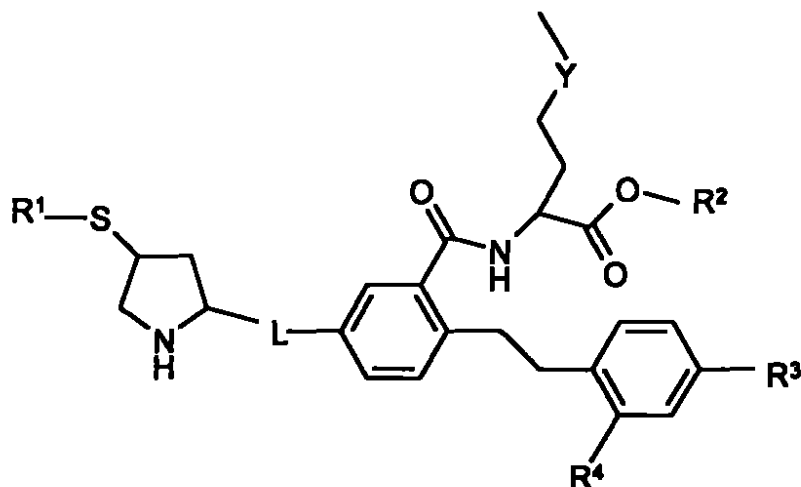
Cancer is believed to involve alteration in expression or function of genes controlling cell growth and differentiation. Whilst not wishing to be bound by theoretical considerations the following text sets out the scientific background to ras in cancer. Ras genes are frequently mutated in tumours. Ras genes encode guanosine triphosphate (GTP) binding proteins which are believed to be involved in signal transduction, proliferation and malignant transformation. H-, K- and N-ras genes have been identified as mutant forms of ras (Barbacid M, Ann. Rev. Biochem. 1987, 56: 779-827). Post translational modification of ras protein is required for biological activity. Farnesylation of ras catalysed by FPTase is believed to be an essential step in ras processing. It occurs by transfer of the farnesyl group of farnesyl pyrophosphate (FPP) to a cysteine at the C-terminal tetrapeptide of ras in a structural motif called the CAAX box. After further post-translational modifications, including proteolytic cleavage at the cysteine residue of the CAAX box and methylation of the cysteine carboxyl, ras is able to attach to the cell membrane for relay of growth signals to the cell interior. In normal cells activated ras is believed to act in conjunction with growth factors to stimulate cell growth. In tumour cells it is believed that mutations in ras cause it to stimulate cell division even in the absence of growth factors (Travis J, Science 1993, 260: 1877-1878), possibly through being permanently in GTP activated form rather than cycled back to GDP inactivated form. Inhibition of farnesylation of mutant ras gene products will stop or reduce activation.

One class of known inhibitors of farnesyl transferase is based on farnesyl pyrophosphate analogues; see for example European patent application EP 534546 from Merck. Inhibitors of farnesyl transferase based on mimicry of the CAAX box have been reported. Reiss (1990) in Cell 62, 81-8 disclosed tetrapeptides such as CVIM (Cys-Val-Ile-Met). James (1993) in Science 260, 1937-1942 disclosed benzodiazepine based peptidomimetic compounds. Lerner (1995) in J. Biol. Chem. 270, 26802 and Eisai in

International Patent Application WO 95/25086 disclosed further peptidomimetic compounds based on Cys as the first residue. EP 696593 and PCT/GB96/01810 disclose further farnesyl transferase inhibitors, including pyrrolidine derivatives. In addition, a range of inhibitors of ras farnesylation are described and claimed in PCT/GB99/00369.

5 The applicants have found that a particular substitution of the pyrrolidine provides particular advantages in terms of inhibition of farnesyl transferase.

 According to one aspect of the present invention there is provided a compound of formula (I)



10

(I)

wherein:

R^1 and R^2 are independently selected from H or a prodrug moiety;

R^3 is hydrogen or halogen;

15 R^4 is hydrogen or halogen;

L is a group $-CH=CH-$ or a group $-CH_2-Z-$ where Z is NH or O;

Y is a S, S(O) or S(O)₂ group,

or a salt thereof.

20 As used herein, the term "alkyl" refers to straight or branched chain groups, which may, unless otherwise stated have from 1 to 20 and preferably from 1 to 6 carbon atoms. The term "aryl" includes phenyl. The term "halo" includes fluoro, chloro, bromo and iodo.

 The term "heterocyl" or "heterocyclic" include groups having from 4 to 10 ring atoms, up to 5 of which are selected from oxygen, sulphur and nitrogen. The rings

may be mono-, or bicyclic and each ring may be aromatic or non-aromatic in character. Nitrogen atoms may be substituted if the valency of the ring allows it, with either a hydrogen or substituent group, such as a alkyl substituent. Sulphur atoms in a heterocyclic ring may be oxidised to S(O) or S(O)₂ groups.

- 5 Examples of aromatic 5- or 6-membered heterocyclic ring systems include imidazole, triazole, pyrazine, pyrimidine, pyridazine, pyridine, isoxazole, oxazole, isothiazole, thiazole and thiophene. A 9- or 10-membered bicyclic heteroaryl ring system is an aromatic bicyclic ring system comprising a 6-membered ring fused to either a 5 membered ring or another 6 membered ring. Examples of 5/6 and 6/6 bicyclic ring
- 10 systems include benzofuran, benzimidazole, benzthiophene, benzthiazole, benzisothiazole, benzoxazole, benzisoxazole, pyridoimidazole, pyrimidoimidazole, quinoline, isoquinoline, quinoxaline, quinazoline, phthalazine, cinnoline and naphthyridine.

- Preferably monocyclic heteroaryl rings contain up to 3 heteroatoms and bicyclic heteroaryl rings contain up to 5 heteroatoms. Preferred heteroatoms are N and
- 15 S, especially N. In general, attachment of heterocyclic rings to other groups is via carbon atoms. Suitable heterocyclic groups containing only N as the heteroatom are pyrrole, pyridine, indole, quinoline, isoquinoline, imidazole, pyrazine, pyrimidine, purine and pteridine.

- Hydrogenated or other substituted forms of the above aromatic rings, (which are
- 20 not aromatic), such as pyrrolidine, piperidine or morpholine rings are examples of non-aromatic heterocyclic groups.

 Various forms of prodrugs are known in the art. For examples of such prodrug derivatives, see:

- a) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) and Methods in
- 25 Enzymology, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);
- b) A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krogsgaard-Larsen and
- H. Bundgaard, Chapter 5 "Design and Application of Prodrugs", by H. Bundgaard p. 113-191 (1991);
- 30 c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992);
- d) H. Bundgaard, *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988); and

- e) N. Kakeya, *et al.*, Chem Pharm Bull, 32, 692 (1984).

Suitable examples of groups R^1 are hydrogen or prodrug groups of formula $R^3C(O)$ -where R^3 is an optionally substituted aryl or heterocyclyl group. In particular R^3 is optionally substituted phenyl, optionally substituted pyridyl, optionally substituted
 5 furyl, optionally substituted isoxazole, optionally substituted tetrahydropyridyl or optionally substituted tetrahydrofuryl.

Suitable substituents for R^3 include alkyl groups such as methyl, haloalkyl groups such as trifluoromethyl, hydroxy, alkoxy such as methoxy or cyano.

Preferably R^3 is phenyl, pyridyl or N-methylpiperidine.

- 10 Examples of prodrugs groups for R^2 are *in vivo* cleavable ester groups of a pharmaceutically-acceptable ester which is cleaved in the human or animal body to produce the parent acid. Suitably R^2 together with the carboxy group to which it is attached forms a pharmaceutically-acceptable esters such as C_{1-4} alkyl esters or C_{1-4} cycloalkyl esters, for example methyl, ethyl, propyl, iso-propyl, n-butyl or cyclopentyl
 15 ; C_{1-4} alkoxymethyl esters, for example methoxymethyl; C_{1-4} alkanoyloxymethyl esters, for example pivaloyloxymethyl; phthalidyl esters; C_{1-4} cycloalkoxycarbonyloxy C_{1-4} alkyl esters, for example 1-cyclohexylcarbonyloxyethyl; 1,3-dioxolan-2-ylmethyl esters, for example 5-methyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl; C_{1-4} alkoxycarbonyloxyethyl esters, for example 1-methoxycarbonyloxyethyl; aminocarbonylmethyl esters and mono- or di-
 20 N-(C_{1-4} alkyl) versions thereof, for example N,N-dimethylaminocarbonylmethyl esters and N-ethylaminocarbonylmethyl esters, and pharmaceutically acceptable esters of optionally substituted heterocyclic groups.

- Further examples of such prodrugs for R^2 are *in vivo* cleavable amides of a compound of the invention. Examples of such *in vivo* cleavable amides include an
 25 N- C_{1-4} alkylamide and an N,N-di-(C_{1-4} alkyl)amide such as N-methyl, N-ethyl, N-propyl, N,N-dimethyl, N-ethyl-N-methyl or N,N-diethylamide.

Thus in particular, R^2 is selected from hydrogen, a C_{1-4} alkyl group such as isopropyl or cyclopentyl, or an optionally substituted heterocyclic group such as N-methyl-tetrahydropyridyl.

- 30 R^3 is suitably a halo atom in particular fluorine.

R^4 is preferably a hydrogen or fluorine, and in particular is hydrogen.

- 5 -

The linking group L is preferably a group of formula $\text{CH}_2\text{-Z-}$ where Z is NH or O.

Group Y is preferably a group S or S(O)_2 .

It is to be understood that, insofar as certain of the compounds of Formula I defined above may exist in optically active or racemic forms by virtue of one or more asymmetric carbon atoms, the invention includes in its definition any such optically active or racemic form which possesses the property of inhibiting FTPase. The synthesis of optically active forms may be carried out by standard techniques of organic chemistry well known in the art, for example by synthesis from optically active starting materials or by resolution of a racemic form. Similarly, inhibitory properties against FTPase may be evaluated using the standard laboratory techniques referred to hereinafter.

Preferably any chiral carbon atoms at the 2 and 4 positions of the pyrrolidine ring in Formula I are in S configuration

Compounds of Formula I may form salts which are within the ambit of the invention. Pharmaceutically acceptable salts are preferred although other salts may be useful in, for example, isolating or purifying compounds.

When the compound contains a basic moiety it may form pharmaceutically acceptable salts with a variety of inorganic or organic acids, for example hydrochloric, hydrobromic, sulphuric, phosphoric, trifluoroacetic, citric or maleic acid. A suitable pharmaceutically-acceptable salt of the invention when the compound contains an acidic moiety is an alkali metal salt, for example a sodium or potassium salt, an alkaline earth metal salt, for example a calcium or magnesium salt, an ammonium salt or a salt with an organic base which affords a pharmaceutically-acceptable cation, for example a salt with methylamine, dimethylamine, trimethylamine, piperidine, morpholine or tris-(2-hydroxyethyl)amine. Particular salts of compounds of the invention are acetates, alkyl sulphonates such as methyl or ethyl sulphonate, fumarates, formates, succinates and gluconates.

Solvates, for example hydrates, are also within the ambit of the invention and may be prepared by generally known methods.

Particular examples of compounds of formula (I) are shown in Table 1

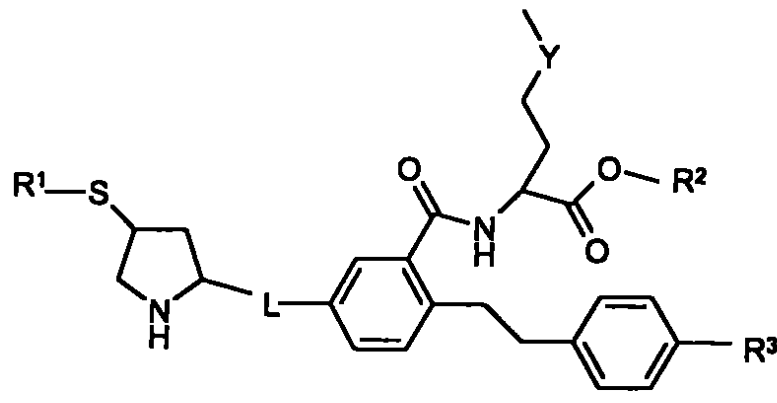
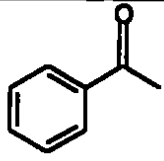
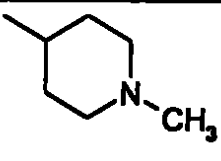
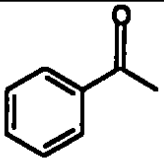
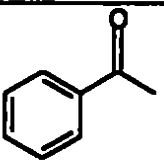
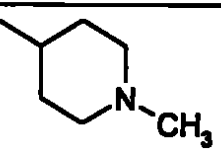
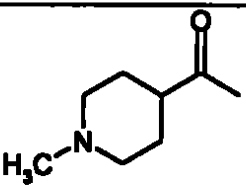
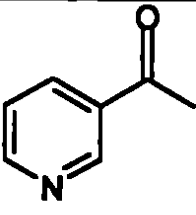
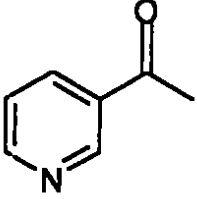
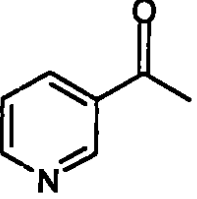


Table 1

Compd. No	R ¹	R ²	R ³	L	Y
1	H	H	F	-CH ₂ NH-	S
2	H	-CH(CH ₃) ₂	F	-CH ₂ NH-	S
3			F	-CH ₂ O-	S
4		-CH(CH ₃) ₂	F	-CH ₂ NH-	S
5			F	-CH ₂ NH-	S
6		-CH(CH ₃) ₂	F	-CH ₂ NH-	S
7		-CH(CH ₃) ₂	F	-CH ₂ O-	SO ₂

8		-CH(CH ₃) ₂	F	-CH ₂ NH-	S
9		-CH(CH ₃) ₂	F	-CH=CH-	S

According to another aspect of the invention there is provided a compound of Formula I for use as a medicament.

Further according to the invention there is provided a compound of Formula I for use in preparation of a medicament for treatment of a disease mediated through farnesylation of ras, in particular cancer.

The compound is suitably formulated as a pharmaceutical composition for use in this way.

Thus, according to yet another aspect of the invention there is provided a pharmaceutical composition comprising a compound of formula I listed above together with a pharmaceutically acceptable diluent or carrier.

According to another aspect of the present invention there is provided a method of treating ras mediated diseases, especially cancer, by administering an effective amount of a compound of Formula I to a mammal in need of such treatment.

According to a further feature of the invention there is provided a compound of Formula I, or a pharmaceutically-acceptable salt thereof, for use in a method of treatment of the human or animal body by therapy.

The invention also provides the use of a compound of formula (I) in the preparation of a medicament for use in treating farnesylated ras mediated disease or medical condition such as cancers.

Specific cancers which may be treated by the compound or composition of the invention include:

- carcinoma, including that of the bladder, breast, colon, kidney, liver, lung, ovary, pancreas, stomach, cervix, thyroid and skin;

- hematopoietic tumors of lymphoid lineage, including acute lymphocytic leukemia, B-cell lymphoma and Burkett's lymphoma;
- hematopoietic tumors of myeloid lineage, including acute and chronic myelogenous leukemias and promyelocytic leukemia;
- 5 - tumors of mesenchymal origin, including fibrosarcoma and rhabdomyosarcoma; and
- other tumors, including melanoma, seminoma, teratocarcinoma, neuroblastoma and glioma.

The compounds of Formula I are especially useful in treatment of tumors having
10 a high incidence of ras mutation, such as colon, lung, and pancreatic tumors. By the administration of a composition having one (or a combination) of the compounds of this invention, development of tumors in a mammalian host is reduced.

Compounds of Formula I may also be useful in the treatment of diseases other than cancer that may be associated with signal transduction pathways operating through
15 Ras, e.g., neuro-fibromatosis.

Compounds of Formula I may also be useful in the treatment of diseases associated with CAAX-containing proteins other than Ras (e.g., nuclear lamins and transducin) that are also post-translationally modified by the enzyme farnesyl protein transferase.

20 The compositions of the invention may be in a form suitable for oral use (for example as tablets, lozenges, hard or soft capsules, aqueous or oily suspensions, emulsions, dispersible powders or granules, syrups or elixirs), for topical use (for example as creams, ointments, gels, or aqueous or oily solutions or suspensions), for administration by inhalation (for example as a finely divided powder or a liquid aerosol), for administration
25 by insufflation (for example as a finely divided powder) or for parenteral administration (for example as a sterile aqueous or oily solution for intravenous, subcutaneous, intramuscular or intramuscular dosing or as a suppository for rectal dosing).

The compositions of the invention may be obtained by conventional procedures using conventional pharmaceutical excipients, well known in the art. Thus, compositions
30 intended for oral use may contain, for example, one or more colouring, sweetening, flavouring and/or preservative agents.

Suitable pharmaceutically acceptable excipients for a tablet formulation include. for example, inert diluents such as lactose, sodium carbonate, calcium phosphate or calcium carbonate, granulating and disintegrating agents such as corn starch or algenic acid; binding agents such as starch; lubricating agents such as magnesium stearate, stearic acid or talc; preservative agents such as ethyl or propyl p-hydroxybenzoate, and anti-oxidants, such as ascorbic acid. Tablet formulations may be uncoated or coated either to modify their disintegration and the subsequent absorption of the active ingredient within the gastrointestinal tract, or to improve their stability and/or appearance, in either case. using conventional coating agents and procedures well known in the art.

10 Compositions for oral use may be in the form of hard gelatin capsules in which the active ingredient is mixed with an inert solid diluent, for example, calcium carbonate, calcium phosphate or kaolin, or as soft gelatin capsules in which the active ingredient is mixed with water or an oil such as peanut oil, liquid paraffin, or olive oil.

Aqueous suspensions generally contain the active ingredient in finely powdered
15 form together with one or more suspending agents, such as sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, sodium alginate, polyvinyl-pyrrolidone, gum tragacanth and gum acacia; dispersing or wetting agents such as lecithin or condensation products of an alkylene oxide with fatty acids (for example polyoxyethylene stearate), or condensation products of ethylene oxide with long chain
20 aliphatic alcohols, for example heptadecaethyleneoxycetanol, or condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and a hexitol such as polyoxyethylene sorbitol monooleate, or condensation products of ethylene oxide with long chain aliphatic alcohols, for example heptadecaethyleneoxycetanol, or condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and a hexitol such as
25 polyoxyethylene sorbitol monooleate, or condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and hexitol anhydrides, for example polyethylene sorbitan monooleate. The aqueous suspensions may also contain one or more preservatives (such as ethyl or propyl p-hydroxybenzoate, anti-oxidants (such as ascorbic acid), colouring agents, flavouring agents, and/or sweetening agents (such as sucrose, saccharine
30 or aspartame).

Oily suspensions may be formulated by suspending the active ingredient in a vegetable oil (such as arachis oil, olive oil, sesame oil or coconut oil) or in a mineral oil

(such as liquid paraffin). The oily suspensions may also contain a thickening agent such as beeswax, hard paraffin or cetyl alcohol. Sweetening agents such as those set out above, and flavouring agents may be added to provide a palatable oral preparation. These compositions may be preserved by the addition of an anti-oxidant such as ascorbic acid.

5 Dispersible powders and granules suitable for preparation of an aqueous suspension by the addition of water generally contain the active ingredient together with a dispersing or wetting agent, suspending agent and one or more preservatives. Suitable dispersing or wetting agents and suspending agents are exemplified by those already mentioned above. Additional excipients such as sweetening, flavouring and colouring
10 agents, may also be present.

 The pharmaceutical compositions of the invention may also be in the form of oil-in-water emulsions. The oily phase may be a vegetable oil, such as olive oil or arachis oil, or a mineral oil, such as for example liquid paraffin or a mixture of any of these. Suitable emulsifying agents may be, for example, naturally-occurring gums such as gum
15 acacia or gum tragacanth, naturally-occurring phosphatides such as soya bean, lecithin, an esters or partial esters derived from fatty acids and hexitol anhydrides (for example sorbitan monooleate) and condensation products of the said partial esters with ethylene oxide such as polyoxyethylene sorbitan monooleate. The emulsions may also contain sweetening, flavouring and preservative agents.

20 Syrups and elixirs may be formulated with sweetening agents such as glycerol, propylene glycol, sorbitol, aspartame or sucrose, and may also contain a demulcent, preservative, flavouring and/or colouring agent.

 The pharmaceutical compositions may also be in the form of a sterile injectable aqueous or oily suspension, which may be formulated according to known procedures
25 using one or more of the appropriate dispersing or wetting agents and suspending agents, which have been mentioned above. A sterile injectable preparation may also be a sterile injectable solution or suspension in a non-toxic parenterally-acceptable diluent or solvent, for example a solution in 1,3-butanediol.

 Suppository formulations may be prepared by mixing the active ingredient with a
30 suitable non-irritating excipient which is solid at ordinary temperatures but liquid at the rectal temperature and will therefore melt in the rectum to release the drug. Suitable excipients include, for example, cocoa butter and polyethylene glycols.

Topical formulations, such as creams, ointments, gels and aqueous or oily solutions or suspensions, may generally be obtained by formulating an active ingredient with a conventional, topically acceptable, vehicle or diluent using conventional procedure well known in the art.

5 Compositions for administration by insufflation may be in the form of a finely divided powder containing particles of average diameter of, for example, 30 μ or much less. the powder itself comprising either active ingredient alone or diluted with one or more physiologically acceptable carriers such as lactose. The powder for insufflation is then conveniently retained in a capsule containing, for example, 1 to 50mg of active ingredient
10 for use with a turbo-inhaler device, such as is used for insufflation of the known agent sodium cromoglycate.

 Compositions for administration by inhalation may be in the form of a conventional pressurised aerosol arranged to dispense the active ingredient either as an aerosol containing finely divided solid or liquid droplets. Conventional aerosol propellants
15 such as volatile fluorinated hydrocarbons or hydrocarbons may be used and the aerosol device is conveniently arranged to dispense a metered quantity of active ingredient.

 For further information on Formulation the reader is referred to Chapter 25.2 in Volume 5 of Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

20 The amount of active ingredient that is combined with one or more excipients to produce a single dosage form will necessarily vary depending upon the host treated and the particular route of administration. For example, a formulation intended for oral administration to humans will generally contain, for example, from 0.5 mg to 2 g of active agent compounded with an appropriate and convenient amount of excipients which may
25 vary from about 5 to about 98 percent by weight of the total composition. Dosage unit forms will generally contain about 1 mg to about 500 mg of an active ingredient. For further information on Routes of Administration and Dosage Regimes the reader is referred to Chapter 25.3 in Volume 5 of Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

30 The size of the dose for therapeutic or prophylactic purposes of a compound of the Formula I will naturally vary according to the nature and severity of the conditions, the age and sex of the animal or patient and the route of administration, according to well

known principles of medicine. As mentioned above, compounds of the Formula I are useful in treating diseases or medical conditions which are due alone or in part to the effects of farnesylation of ras.

In using a compound of the Formula I for therapeutic or prophylactic purposes
5 it will generally be administered so that a daily dose in the range, for example, 0.5 mg to 75 mg per kg body weight is received, given if required in divided doses. In general lower doses will be administered when a parenteral route is employed. Thus, for example, for intravenous administration, a dose in the range, for example, 0.5 mg to 30 mg per kg body weight will generally be used. Similarly, for administration by inhalation, a dose in the
10 range, for example, 0.5 mg to 25 mg per kg body weight will be used. Oral administration is however preferred.

Compounds of this invention may be useful in combination with known anti-cancer and cytotoxic agents. If formulated as a fixed dose such combination products employ the compounds of this invention within the dosage range described herein and the
15 other pharmaceutically active agent within its approved dosage range. Sequential use is contemplated when a combination formulation is inappropriate.

Although the compounds of the Formula I are primarily of value as therapeutic agents for use in warm-blooded animals (including man), they are also useful whenever it is required to inhibit the effects of activation of ras by farnesylation. Thus, they are useful
20 as pharmacological standards for use in the development of new biological tests and in the search for new pharmacological agents.

According to another aspect of the present invention there is provided individual compounds produced as end products in the Examples set out below and salts thereof.

25 A compound of the invention, or a salt thereof, may be prepared by any process known to be applicable to the preparation of such compounds or structurally related compounds. Such processes are illustrated by the following representative schemes in which variable groups have any of the meanings defined for Formula I unless stated otherwise. Functional groups may be protected and deprotected using conventional
30 methods. For examples of protecting groups such as amino and carboxylic acid protecting groups (as well as means of formation and eventual deprotection), see T.W. Greene and P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Second Edition, John

Wiley & Sons, New York, 1991. Note abbreviations used have been listed immediately before the Examples below.

Protecting groups may be removed by any convenient method as described in the literature or known to the skilled chemist as appropriate for the removal of the protecting
5 group in question, such methods being chosen so as to effect removal of the protecting group with minimum disturbance of groups elsewhere in the molecule.

Specific examples of protecting groups are given below for the sake of convenience, in which "lower" signifies that the group to which it is applied preferably has 1-4 carbon atoms. It will be understood that these examples are not exhaustive. Where specific examples
10 of methods for the removal of protecting groups are given below these are similarly not exhaustive. The use of protecting groups and methods of deprotection not specifically mentioned is of course within the scope of the invention.

A carboxy protecting group may be the residue of an ester-forming aliphatic or araliphatic alcohol or of an ester-forming silanol (the said alcohol or silanol preferably
15 containing 1-20 carbon atoms).

Examples of carboxy protecting groups include straight or branched chain (1-12C)alkyl groups (e.g. isopropyl, *t*-butyl); lower alkoxy lower alkyl groups (e.g. methoxymethyl, ethoxymethyl, isobutoxymethyl; lower aliphatic acyloxy lower alkyl groups, (e.g. acetoxymethyl, propionyloxymethyl, butyryloxymethyl, pivaloyloxymethyl); lower
20 alkoxycarbonyloxy lower alkyl groups (e.g. 1-methoxycarbonyloxyethyl, 1-ethoxycarbonyloxyethyl); aryl lower alkyl groups (e.g. *p*-methoxybenzyl, *o*-nitrobenzyl, *p*-nitrobenzyl, benzhydryl and phthalidyl); tri(lower alkyl)silyl groups (e.g. trimethylsilyl and *t*-butyldimethylsilyl); tri(lower alkyl)silyl lower alkyl groups (e.g. trimethylsilylethyl); and (2-6C)alkenyl groups (e.g. allyl and vinyloethyl).

25 Methods particularly appropriate for the removal of carboxyl protecting groups include for example acid-, metal- or enzymically-catalysed hydrolysis.

Examples of hydroxy protecting groups include lower alkenyl groups (e.g. allyl); lower alkanoyl groups (e.g. acetyl); lower alkoxycarbonyl groups (e.g. *t*-butoxycarbonyl); lower alkenyloxycarbonyl groups (e.g. allyloxycarbonyl); aryl lower alkoxycarbonyl groups
30 (e.g. benzoyloxycarbonyl, *p*-methoxybenzyloxycarbonyl, *o*-nitrobenzyloxycarbonyl, *p*-nitrobenzyloxycarbonyl); tri lower alkyl/arylsilyl groups (e.g. trimethylsilyl,

t-butyldimethylsilyl, *t*-butyldiphenylsilyl); aryl lower alkyl groups (e.g. benzyl) groups: and triaryl lower alkyl groups (e.g. triphenylmethyl).

Examples of amino protecting groups include formyl, aralkyl groups (e.g. benzyl and substituted benzyl, e.g. *p*-methoxybenzyl, nitrobenzyl and 2,4-dimethoxybenzyl. and triphenylmethyl); di-*p*-anisylmethyl and furylmethyl groups; lower alkoxycarbonyl (e.g. *t*-butoxycarbonyl); lower alkenyloxycarbonyl (e.g. allyloxycarbonyl); aryl lower alkoxycarbonyl groups (e.g. benzyloxycarbonyl, *p*-methoxybenzyloxycarbonyl, *o*-nitrobenzyloxycarbonyl, *p*-nitrobenzyloxycarbonyl); trialkylsilyl (e.g. trimethylsilyl and *t*-butyldimethylsilyl); alkylidene (e.g. methylidene); benzylidene and substituted benzylidene groups.

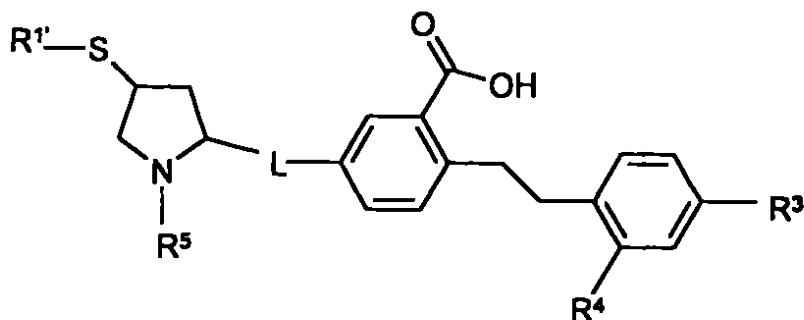
Methods appropriate for removal of hydroxy and amino protecting groups include, for example, acid-, base, metal- or enzymically-catalysed hydrolysis, or photolytically for groups such as *o*-nitrobenzyloxycarbonyl, or with fluoride ions for silyl groups.

Examples of protecting groups for amide groups include aralkoxymethyl (e.g. benzyloxymethyl and substituted benzyloxymethyl); alkoxymethyl (e.g. methoxymethyl and trimethylsilylethoxymethyl); tri alkyl/arylsilyl (e.g. trimethylsilyl, *t*-butyldimethylsilyl, *t*-butyldiphenylsilyl); tri alkyl/arylsilyloxymethyl (e.g. *t*-butyldimethylsilyloxymethyl, *t*-butyldiphenylsilyloxymethyl); 4-alkoxyphenyl (e.g. 4-methoxyphenyl); 2,4-di(alkoxy)phenyl (e.g. 2,4-dimethoxyphenyl); 4-alkoxybenzyl (e.g. 4-methoxybenzyl); 2,4-di(alkoxy)benzyl (e.g. 2,4-di(methoxy)benzyl); and alk-1-enyl (e.g. allyl, but-1-enyl and substituted vinyl e.g. 2-phenylvinyl).

Aralkoxymethyl, groups may be introduced onto the amide group by reacting the latter group with the appropriate aralkoxymethyl chloride, and removed by catalytic hydrogenation. Alkoxymethyl, tri alkyl/arylsilyl and tri alkyl/silyloxymethyl groups may be introduced by reacting the amide with the appropriate chloride and removing with acid; or in the case of the silyl containing groups, fluoride ions. The alkoxyphenyl and alkoxybenzyl groups are conveniently introduced by arylation or alkylation with an appropriate halide and removed by oxidation with ceric ammonium nitrate. Finally alk-1-enyl groups may be introduced by reacting the amide with the appropriate aldehyde and removed with acid.

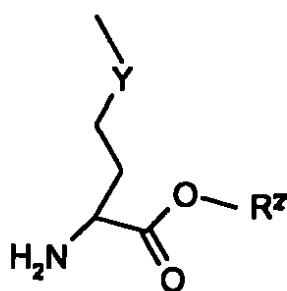
The invention also provides a process for preparing a compound of formula (I) as defined above which process comprises reacting a compound of formula (II)

- 15 -



(II)

where L, R³ and R⁴ are as defined in relation to formula (I), R^{1'} is a group R¹ as defined in relation to formula (I) or a precursor thereof, and R³ is a protecting group such as BOC,
 5 with a compound of formula (III)



(III)

where Y is as defined in relation to formula (I) and R^{2'} is a group R² as defined in relation
 10 to formula (I) or a precursor thereof;

and thereafter if desired or necessary, carrying out one or more of the following steps:

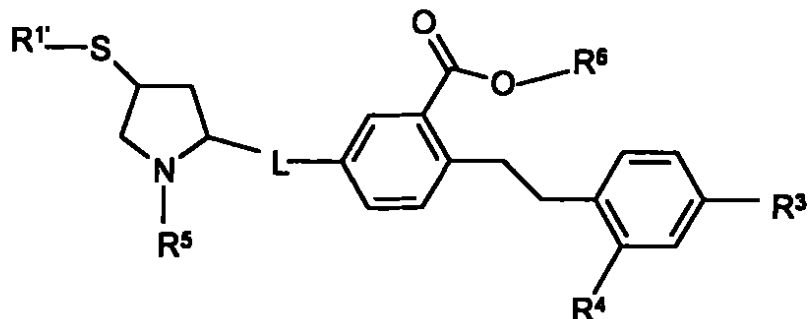
- a) removing protecting groups R³;
- a) converting any precursor groups R^{1'} and R^{2'} to groups R¹ and R²; and
- 15 b) changing said groups to different R¹, R² groups.

The reaction between compounds of formula (II) and (III) is suitably effected in an organic solvent such as dichloromethane in the presence of a base such as DMAP and EDC. Moderate temperatures for example of from 0 to 50°C, conveniently ambient temperature, are employed.

20 Precursor groups R^{1'} and R^{2'} may include protecting groups such as esters, which are not pharmaceutically acceptable. These may be converted to hydrogen or other prodrug groups using conventional methods as illustrated below.

Removal of protecting groups R^3 can be carried out using conventional methods such as reaction with TFA and/or triethylsilane.

Compounds of formula (II) are suitably prepared by deprotecting a compound of formula (IV)



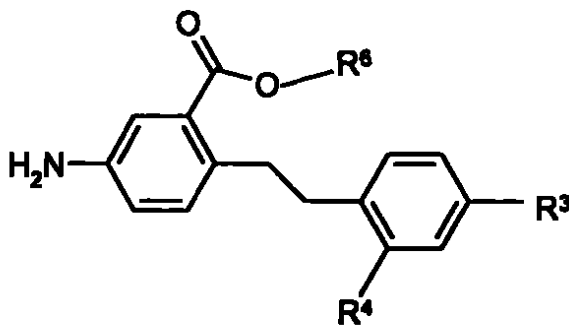
5

(IV)

where R^1 , R^3 , R^4 , R^5 and L are as defined in relation to formula (II) and R^6 is a protecting group, in particular an alkyl group such as methyl. Deprotection is suitably effected using a strong base such as an alkali metal hydroxide, in particular sodium hydroxide. The reaction is suitably effected in a solvent such as aqueous alcohol and in particular aqueous methanol, at elevated temperatures, conveniently at the reflux temperature of the solvent.

10

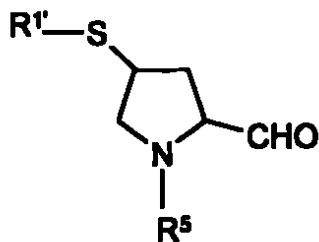
Compounds of formula (IV) where L is $-CH_2NH-$ may be prepared by coupling a compound of formula (V)



15

(V)

where R^3 , R^4 and R^6 are as defined above; with an aldehyde of formula (VI)



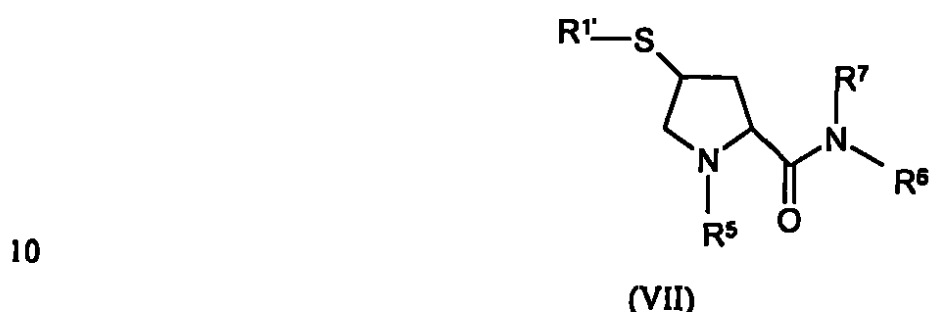
- 17 -

(VI)

where $R^{1'}$ and R^5 are as defined above.

Suitable coupling conditions include the use of a reducing agent (e.g. $NaCNBH_3$, BH_3 , hydrogen plus catalyst. $LiHBEt_3$, di-isobutyl-aluminiumhydride. lithium aluminium hydride, sodium borohydride) in the presence of a suitable solvent e.g. methanol or ethanol & acetic acid.

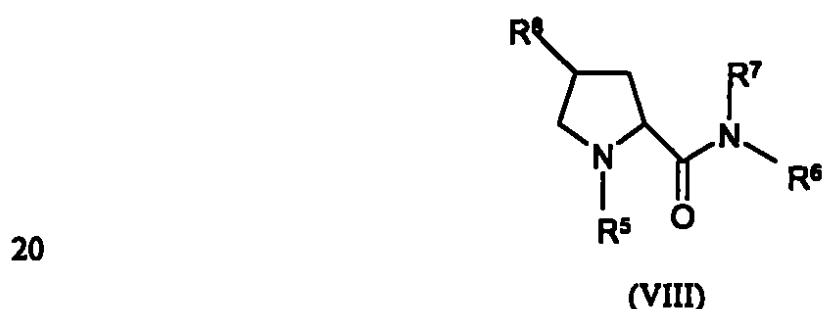
Aldehydes of formula (VI) may be prepared by reduction of the compounds of formula (VII)



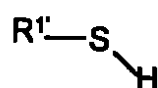
where $R^{1'}$ and R^5 are as defined above and R^6 is alkyl such as methyl and R^7 is alkoxy such as methoxy.

Suitably powerful reducing agents such as lithium aluminium hydride are employed. The reaction is carried out in a solvent such as tetrahydrofuran at low temperatures, for example from -50 to $0^\circ C$, in particular at about $-20^\circ C$.

Compounds of formula (VII) are suitably prepared by reacting a compound of formula (VIII)



where R^8 is a leaving group such a methansulphonyloxy group, which a compound of formula (IX)

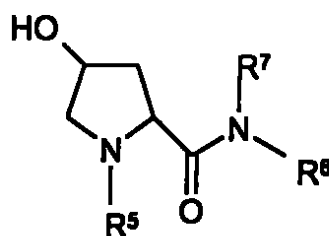


(IX)

where R^1 is as defined above and in particular is a triphenylmethyl or trityl group.

- 5 Reaction conditions would be apparent to the skilled person, but in general, the reaction is effected in an organic solvent such as dimethylformamide (DMF) at moderate temperatures, for example of from 0 to 60°C and preferably at about 40°C.

Compounds of formula (VIII) may be prepared by reacting compounds of formula (X)



10

(X)

where R^5 , R^6 and R^7 are as defined above, with a compound of formula (XI)



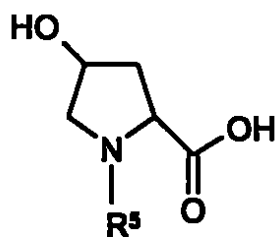
15

(XI)

where R^8 is as defined above and Z is a leaving group such as halogen, in particular chlorine. The reaction is suitably effected in an organic solvent such as dichloromethane in the presence of a weak base such as triethylamine. Moderate to low temperatures, for example, from -10 to 0°C are suitably employed.

20

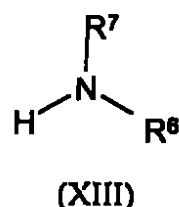
Compounds of formula (X) are suitably prepared by reacting a compound of formula (XII)



(XII)

- 19 -

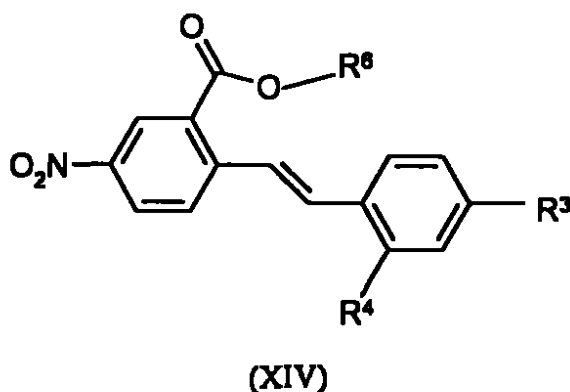
where R^5 is as defined above, with a compound of formula (XIII)



where R^6 and R^7 are as defined above. A particular example of a compound of formula (XIII) is N,O-dimethylhydroxylamine. The reaction is suitably effected in the presence of a base (such as DCCl and DMAP) and in an organic solvent such as dichloromethane.

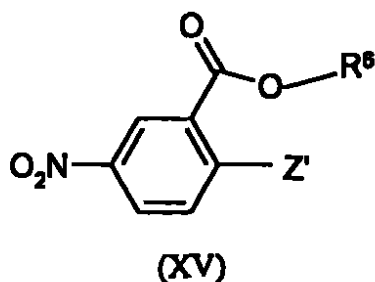
Compounds of formula (XII) may be prepared by N-protection of the corresponding hydroxy proline derivative using known methods.

Compounds of formula (V) are suitably prepared by hydrogenation of a compound of formula (XIV)



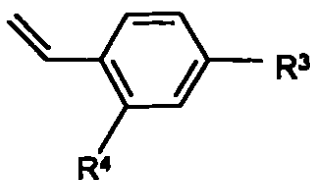
where R^3 , R^4 and R^6 are as defined above. Hydrogenation is suitably effected in the presence of a catalyst such as a palladium catalyst.

Compounds of formula (XIV) are suitably prepared by reacting a compound of formula (XV)



where R^6 is as defined above and Z' is a leaving group such as halogen and in particular bromine, with a compound of formula (XVI)

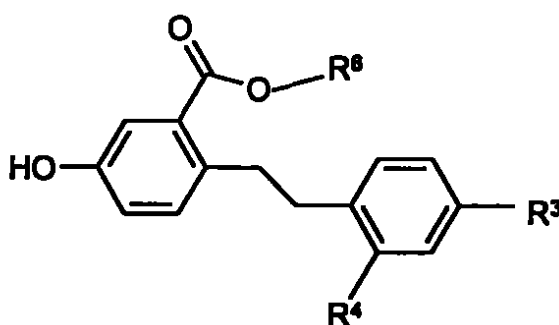
- 20 -



(XVI)

where R^3 and R^4 are as defined above. The reaction is suitably effected in the presence of a base such as tributylamine, and a catalyst such as a palladium catalyst (e.g. bis-
 5 triphenylphosphine)-palladium(II) chloride.

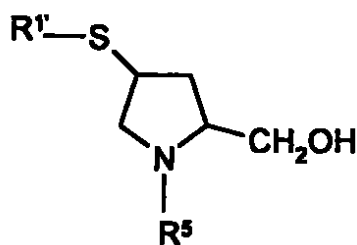
Compounds of formula (IV) where L represents $-\text{CH}_2\text{O}-$ may be prepared by reacting a compound of formula (XVII)



(XVII)

10

where R^3 , R^4 and R^6 are as defined above,
 with a compound of formula (XVIII)



(XVIII)

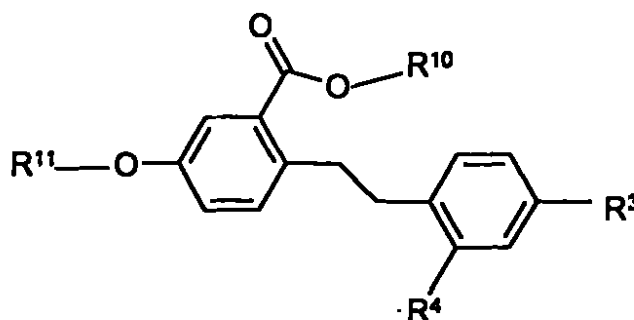
15 where $R^{1'}$ and R^5 are as defined above. The reaction is suitably effected under conditions similar to those described above for the reaction between compounds of formulae (V) and (VI).

Compounds of formula (XVIII) are suitably prepared by reduction of a compound of formula (VI), for example using a reducing agent such as lithium aluminium

hydride. Reduction is carried out under conventional conditions in a solvent such as tetrahydrofuran.

Compounds of formula (XVII) may be prepared by protection of the corresponding carboxylic acid, for example by esterifying the acid using an alcohol, in particular an alkyl alcohol such as methanol. The reaction is suitably effected in the presence of sulphuryl chloride or the like, at elevated temperatures, conveniently at the reflux temperature of the solvent.

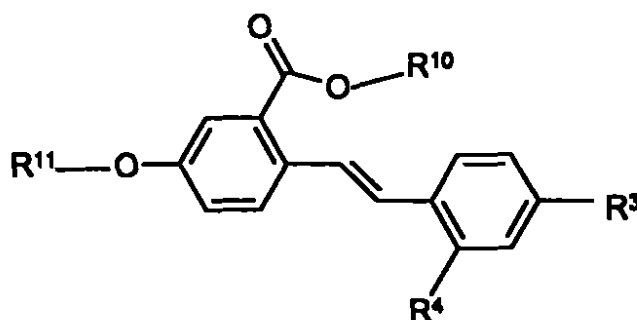
The acid itself may be prepared by deprotection of a compound of formula (XIX)



(XIX)

where R³ and R⁴ are as defined above and R¹⁰ and R¹¹ are protecting groups such as alkyl, and in particular methyl groups. Suitable deprotection conditions include heating the compound with a suitable reagent such as pyridine hydrochloride to high temperatures such, for example from 200 to 250°C, and preferably at about 220°C.

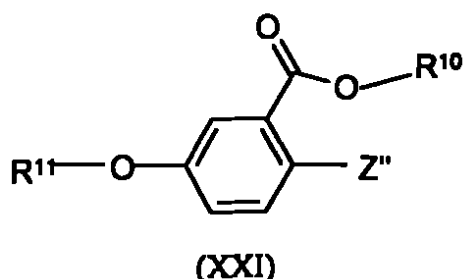
Compounds of formula (XIX) are obtained by hydrogenation of a compound of formula (XX)



(XX)

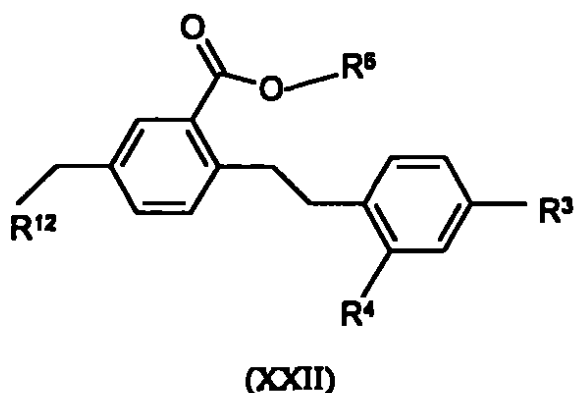
where R³, R⁴, R¹⁰ and R¹¹ are as described above. Suitable hydrogenation conditions include those described above for the hydrogenation of the compound of formula (XIV).

Compounds of formula (XX) may be prepared by reacting a compound of formula (XXI)



- 5 where R^{10} and R^{11} are as defined above and Z'' is a leaving group such as halogen and in particular bromine, with a compound of formula (XVI) as defined above using conditions similar to those described above for the reaction between compounds of formula (XV) and (XVI).

Compounds of formula (IV) where L is $-\text{CH}=\text{CH}-$ are suitably prepared by
 10 reacting a compound of formula (VI) as defined above with a compound of formula (XXII)



- where R^3 , R^4 and R^6 are as defined above and R^{12} is a phosphate ion such as
 15 diethylphosphate, or a triphenylphosphine group. The reaction is a Wittig reaction and is suitably carried out under conventional conditions. Suitable reaction conditions include the use of a base (e.g. potassium carbonate, metal hydride, metal alkoxide) in the presence of an organic solvent (e.g. THF, toluene, DMSO) optionally in the presence of an aqueous solvent (2-phase system) and optionally in the presence of a catalyst complexing agent
 20 which solubilises alkali metal ions in non-polar solvents such as 1,4,7,10,13-pentaoxacyclopentadecane (also called 15-Crown-5) or 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane (also called 18-Crown-6).

Compounds of formula (XXII) are suitably prepared by routes such as those described in PCT/GB98/000230, and in particular Example 19 of that application.

Preparation details are summarised further in Scheme 3 hereinafter.

If necessary or required, groups R^1 and R^2 may be changed for different such groups after any of the above preparation methods using conventional chemistry and examples of this are provided hereinafter.

Biological activity was tested as follows. Farnesyl protein transferase (FPT) was partially purified from human placenta by ammonium sulphate fractionation followed by a single Q-Sepharose® (Pharmacia, Inc) anion exchange chromatography essentially as described by Ray and Lopez-Belmonte (Ray K P and Lopez-Belmonte J (1992) Biochemical Society Transactions 20 494-497). The substrate for FPT was Kras (CVIM C-terminal sequence). The cDNA for oncogenic val 12 variant of human c-Ki-ras-2 4B was obtained from the plasmid pSW11-1 (ATCC). This was then subcloned into the polylinker of a suitable expression vector e.g. pIC147. The Kras was obtained after expression in the E. coli strain, BL21. The expression and purification of c-Ki-ras-2 4B and the val 12 variant in E. coli has also been reported by Lowe et al (Lowe P N et al. J. Biol. Chem. (1991) 266 1672-1678).

Incubations with enzyme contained 300nM tritiated farnesyl pyrophosphate (DuPont/New England Nuclear), 120nM ras-CVIM, 50mM Tris HCl pH 8.0, 5mM MgCl₂, 10µM ZnCl₂, 5mM dithiotheitol and compounds were added at appropriate concentrations in DMSO (3% final concentration in test and vehicle control). Incubations were for 20 minutes at 37°C and were stopped with acid ethanol as described by Pompliano et al. (Pompliano D L et al (1992) 31 3800-3807). Precipitated protein was then collected onto glass fibre filter mats (B) using a Tomtec® cell harvester and tritiated label was measured in a Wallac®1204 Betaplate scintillation counter.

Although the pharmacological properties of the compounds of the Formula I vary with structural change as expected, in general compounds of the Formula I possess an IC₅₀ in the above test in the range, for example, 0.01 to 200µM. Thus by way of example, the compound

5 {[(2S,4S),4-acetylsulfanyl-1-(4-nitro-benzyloxycarbonyl)-pyrrolidine-2-carbonyl]-amino}-3(N-methyl-methoxycarbonyl)-benzoic acid allyl ester (see Example 7) has an IC₅₀ of

approximately 0.5 μ M. No physiologically unacceptable toxicity was observed at the effective dose for compounds tested of the present invention.

The invention will now be illustrated in the following non-limiting Examples
5 in which, unless otherwise stated:-

(i) evaporations were carried out by rotary evaporation in vacuo and work-up procedures were carried out after removal of residual solids by filtration;

(ii) operations were carried out at room temperature, that is in the range 18-25°C and under an atmosphere of an inert gas such as argon;

10 (iii) column chromatography (by the flash procedure) and medium pressure liquid chromatography (MPLC) were performed on Merck Kieselgel silica (Art. 9385) or Merck Lichroprep RP-18 (Art. 9303) reversed-phase silica obtained from E. Merck, Darmstadt, Germany;

(iv) yields are given for illustration only and are not necessarily the maximum
15 attainable;

(v) the end-products of the Formula I have satisfactory microanalyses and their structures were confirmed by nuclear magnetic resonance (NMR) and mass spectral techniques; chemical shift values were measured on the delta scale; the following abbreviations have been used: s, singlet; d, doublet; t or tr, triplet; m, multiplet; br, broad;

20 (vi) intermediates were not generally fully characterised and purity was assessed by thin layer chromatographic, infra-red (IR) or NMR analysis;

(vii) melting points are uncorrected and were determined using a Mettler SP62 automatic melting point apparatus or an oil-bath apparatus; melting points for the end-products of the Formula I were determined after crystallisation from a conventional
25 organic solvent such as ethanol, methanol, acetone, ether or hexane, alone or in admixture; and

(viii) the following abbreviations have been used throughout the application:-

	BOC	<u>tert</u> -butoxycarbonyl
	DCCI	1,3-dicyclohexylcarbodiimide
30	DMA	<u>N,N</u> -dimethylacetamide
	DMAP	4-dimethyl-aminopyridine

- 25 -

	DMF	<u>N,N</u> -dimethylformamide
	DMSO	dimethylsulfoxide
	EDC	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl-carbodiimide
	EEDQ	2-ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline
5	HOBT	1-hydroxybenzotriazole
	NMM	<u>N</u> -methylmorpholine
	NMM-O	4-methylmorpholine- <u>N</u> -oxide
	TFA	trifluoroacetic acid
	THF	tetrahydrofuran
10	TMSI	trimethylsilyliodide
	TPAP	tetrapropylammonium perruthenate

Example 1**Preparation of Compound No. 6 in Table 1**

15 The procedure followed is summarised in Scheme 1 hereinafter. In particular, a mixture of compound (xv) where R was N-methylpiperidine (4.8 g.), triethylsilane(10 ml.) and TFA(200 ml.) was stirred at ambient temperature for 1 hour under a nitrogen atmosphere. The TFA was evaporated away and the residue dissolved in ethyl acetate(50 ml.). HCl in ether(1M., 100 ml.) was added followed by more ether(100 ml.). The resulting white solid

20 was isolated by centrifuging, further washing with ether and re-centrifuging(4 times in all). The solid was dried under high vac. to give Compound 6 in Table 1 as the hydrochloride salt(4.5 g.).

Compound 6

¹H NMR data (DMSO d₆) δ 1.14 (6H, m), 1.7 (1H, m), 1.8-2.11 (7H, m), 2.02 (3H, s),

25 2.29-3.0 (10H, m), 2.66 (3H, d), 3.16 (1H, m), 3.2-3.52 (3H, m), 3.62 (1H, m), 3.78 (1H, m), 4.0 (1H, m), 4.46 (1H, q), 4.9 (1H, m), 6.60 (2H, m), 6.9-7.10 (3H, m), 7.19 (2H, m), 8.59 (1H, d).

MS (ES+) m/z 673.7 (M+H)⁺

The starting material, Compound (xv) in Scheme 1, where R was N-methylpiperidine was prepared as follows:

Compound (xii) is a known compound and was prepared as described in Example 6 of PCT/GB99/00369. A mixture of Compound (xii) (50 g.), L-methionine iso-propyl ester hydrochloride(19.0 g.), DMAP(42.6 g.) and EDC(20.0 g.) in dichloromethane(500 ml.) was stirred at ambient temperature for 18 hours. The solution was washed with aqueous citric acid(1M.), brine and dried. It was then diluted with the same amount of iso-hexane and applied directly to a silica flash column eluting with ethyl acetate/iso-hexane(20:80,30:70) to give Compound (xiii) in Scheme 1 (58.6 g) as a solid white foam.

Compound(xiii):

¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.26 (6H, m), 1.38 (9H, s), 1.41 (1H, m), 1.58 (1H, m), 2.02 (1H, m), 2.05 (3H, s), 2.15-2.4 (2H, m), 2.47-2.7 (2H, m), 2.7-2.98 (6H, m), 3.06-3.34 (2H, m), 3.9 (1H, m), 4.79 (2H, m), 5.08 (1H, m), 6.34 (1H, d), 6.38 (2H, m), 6.91 (3H, m), 7.09 (2H, m), 7.18-7.35 (9H, m), 7.43 (6H, m).

MS (ES+) m/z 890.5 (M+H)⁺

TFA(80 ml.) was added to a rapidly stirring solution of Compound (xiii)(58.6 g.) and triethylsilane(80 ml.) in dichloromethane(4 l.) under a nitrogen atmosphere. The solution was then stirred at ambient temperature for 4.5 hours, basified with sat. sodium bicarbonate solution and the dichloromethane layer separated. After drying and evaporation to a smaller volume(500 ml.) it was applied directly to a silica flash column and eluted with ethyl acetate/iso-hexane(30:70,50:50) to give Compound (xiv) in Scheme 1 (35.5 g.) as a white solid.

Compound(xiv):

¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.25 (6H, m), 1.46 (9H, s), 1.5 (1H, m), 1.68 (1H, m), 1.70 (1H, d), 2.00 (1H, m), 2.08 (3H, s), 2.21 (1H, m), 2.56 (2H, m), 2.75-2.97 (4H, m), 3.05 (1H, m), 3.26 (2H, m), 3.4 (1H, m), 3.85-4.3 (2H, m), 4.8 (2H, q), 5.05 (1H, m), 6.35 (1H, d), 6.6 (2H, m), 6.92 (3H, m), 7.1 (2H, m).

- 27 -

MS (ES+) m/z 648.7 (M+H)⁺

5

A mixture of Compound xiv (4.5 g.), N-methylpiperidine-4-carboxylic acid(1.5 g.), N-methylpiperidine(3.5 g.), EDC(1.6 g.) and HOBT(0.94 g.) in dichloromethane(100 ml.) was stirred under a nitrogen atmosphere for 18 hours. It was then applied directly to a silica flash column and eluted with ethyl acetate/iso-hexane(1:1), ethyl acetate, methanol/ethyl acetate(10:90,20:80) to give Compound xv in Scheme 1 where R is N-methylpiperidine (4.8 g.) as a white foam.

¹H NMR data (DMSO d₆) δ 1.15 (6H, m), 1.4 (9H, s), 1.69 (1H, m), 1.7-2.0 (7H, m), 2.01 (3H, s), 2.11 (3H, s), 2.4-2.6 (4H, m), 2.63-2.82 (6H, m), 3.04 (2H, m), 3.28 (1H, m), 3.42 (1H, m), 3.7-4.0 (3H, m), 4.44 (1H, m), 4.9 (1H, m), 5.82 (1H, t), 6.6 (2H, m), 6.9 (1H, m), 7.03 (2H, t), 7.38 (2H, m), 8.55 (1H, d).

MS (ES+) m/z 773.6 (M+H)⁺

20 Example 2

Using a method analogous to that described in Example 1, Compounds 4 and 8 in Table 1 were prepared from Compound (xiv) in Scheme 1 using the appropriate intermediates.

Compound (xv) in Scheme 1 where R is phenyl:

25 ¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.28 (6H, m), 1.50 (9H, s), 1.50 (1H, m), 1.90 (1H, m), 2.05 (1H, m), 2.07 (3H, s), 2.23 (1H, m), 2.57 (2H, m), 2.69 (1H, m), 2.82 (2H, m), 2.90 (2H, m), 3.27 (2H, m), 3.46 (1H, m), 4.1 (1H, m), 4.23 (1H, m), 4.80 (2H, m), 5.07 (1H, m), 6.40 (1H, d), 6.68(2H, m), 6.93(3H, m), 7.1(2H, m), 7.46(2H, m), 7.59(1H, m), 7.94(2H, d).

30 MS (ES+) m/z 752.71 (M+H)⁺

Compound 4 in Table 1:

¹H NMR data (DMSO d₆) δ 1.16 (7H, m), 1.82 (1H, m), 1.98 (2H, m), 2.01 (3H, s), 3.4-3.9 (6H, m), 3.22 (1H, m), 3.42 (2H, m), 3.80 (2H, m), 4.20 (1H, m), 4.47 (1H, q), 4.90 (1H, m), 6.62 (2H, m), 6.93-7.10 (3H, m), 7.19 (2H, m), 7.57 (2H, t), 7.70 (1H, t), 7.89 (2H, d), 8.60 (1H, d).

MS (ES+) m/z 652 (M+H)⁺

Compound (xv) in Scheme 1 where R is 2-pyridyl:

¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.27 (6H, m), 1.49 (9H, s), 1.50 (1H, m), 1.92 (1H, m), 2.04 (1H, m), 2.10 (3H, s), 2.23 (1H, m), 2.56 (2H, m), 2.70 (1H, m), 2.83 (2H, m), 2.92 (2H, m), 3.28 (2H, m), 3.45 (1H, m), 4.14 (1H, m), 4.25 (1H, m), 4.80 (2H, m), 5.08 (1H, m), 6.40 (1H, d), 6.65 (2H, m), 6.93 (3H, m), 7.10 (2H, m), 7.42 (1H, m), 8.18 (1H, m), 8.80 (1H, m), 9.13 (1H, m).

MS (ES+) m/z 753.71 (M+H)⁺

Compound 8 in Table 1:

¹H NMR data (DMSO d₆) δ 1.15 (6H, m), 1.20 (1H, m), 1.86 (1H, m), 1.97 (2H, m), 2.02 (3H, s), 2.40-2.92 (5H, m), 3.29 (1H, m), 3.37-3.60 (2H, m), 3.68-3.94 (2H, m), 4.28 (1H, m), 4.48 (1H, m), 4.89 (1H, m), 6.67 (2H, m), 7.00 (4H, m), 7.19 (2H, t), 7.68 (1H, m), 8.33 (1H, m), 8.61 (1H, d), 8.88 (1H, m), 9.06 (1H, m).

MS (ES+) m/z 653.56 (M+H)⁺

Example 3Preparation of Compound 7 in Table 1

Compound 7 in Table 1 was synthesised from Compound (xxviii) in Scheme 2 using a method analogous to that described in Example 1 for the conversion of Compound (xv) in

Scheme 1 to Compound 6.

- 29 -

Compound 7 in Table 1

¹H NMR data (DMSO-D₆ + CD₃COOD) δ 1.1-1.25 (6H, m), 1.8-2.05 (1H, m), 2.05-2.35 (2H, m), 2.6-3.05 (5H, m), 2.95 (3H, s), 3.05-3.4 (3H, m), 3.82 (1H, dd), 4.0-4.2 (1H, m), 4.2-4.4 (3H, m), 4.4-4.6 (1H, m), 4.85-5.0 (1H, m), 6.9-7.1 (4H, m), 7.1-7.3 (3H, m), 7.65 (1H, dd), 8.3 (1H, dd), 8.87 (1H, dd), 9.07 (1H, d).

MS (ES+) m/z 686.5 (M+H)⁺

Analysis Calculated for C₃₁H₄₀N₃S₂O₇F₂·2HCl·2H₂O

C,51.4;H,5.8;N,5.3;S,8.0;Cl,8.9

10 Found

C,51.2;H,5.39;N,5.2;S,7.84;Cl,9.2

The starting material, Compound (xxviii) was synthesised from Compound(xxv) in Scheme 2 in a similar manner to that described in Example 1 for the preparation of Compound(xv) in Scheme 1 using the appropriate intermediates. Compound (xxv) was
15 obtained using the method described in Example 12 of PCT/GB99/00369, and summarised in Scheme 2.

Compound (xxvi) in Scheme 2:

¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.2-1.35 (6H, m), 1.35 (9H, s), 1.8-2.05 (1H, m), 2.15-2.4 (1H, m),
20 2.45-3.3 (10H, m), 2.85 (3H, s), 3.7-4.3 (4H, m), 4.7-4.85 (1H, m), 5.0-5.2 (1H, m), 6.5 (1H, d), 6.8-7.0 (4H, m), 7.0-7.15 (3H, m), 7.15-7.4 (9H, m), 7.4-7.6 (6H, m).

MS (ES+) m/z 945.1 (M+Na)⁺

Compound (xxvii) in Scheme 2:

25 ¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.2-1.35 (6H, m), 1.45 (9H, m), 1.75 (1H, d), 1.9-2.1 (1H, m), 2.2-2.4 (1H, m), 2.45-2.7 (2H, m), 2.8-3.4 (8H, m), 2.85 (3H, s), 3.8-4.4 (4H, m), 4.7-4.85 (1H, m), 5.0-5.2 (1H, m), 6.55 (1H, d), 6.8-7.2 (7H, m).

MS (ES+) m/z 681.2 (M+H)⁺

30 MS (ES-) m/z 679.2 (M-H)⁻

Compound (xxviii) in Scheme 2:

¹H NMR data (CDCl₃) δ 1.2-1.35 (6H, m), 1.45 (9H, s), 2.1-2.4 (2H, m), 2.45-2.65 (1H, m), 2.65-2.8 (1H, m), 2.8-3.45 (8H, m), 2.85 (3H, s), 4.0-4.4 (4H, m), 4.7-4.85 (1H, m), 5.0-5.2 (1H, m), 6.55 (1H, d), 6.8-7.2 (7H, m), 7.42 (1H, dd), 8.18 (1H, d), 8.8 (1H, d), 9.15 (1H, s).

MS (ES+) m/z 786.7 (M+H)⁺

MS (ES-) m/z 784.6 (M-H)⁻

10

Example 4**Preparation of Compound 9 in Table 1**

Compound 9 in Table 1 was synthesised from Compound (xxxxi) in Scheme 3 using a method analogous to that described in Example 1 for the conversion of Compound (xv) in Scheme 1 to Compound 6 in Table 1.

15

Compound 9 in Table 1

¹H NMR data (DMSO d₆) δ 1.13 - 1.22 (6H, m), 1.92 - 2.06 (6H, m), 2.39 - 2.46 (1H, m), 2.54 - 2.62 (2H, m), 2.66 - 2.83 (3H, m), 2.92 - 3.00 (2H, m), 3.31 (1H, m), 3.81 (1H, m), 4.30 - 4.39 (1H, m), 4.47 - 4.57 (1H, m), 4.90 (1H, m), 6.37 (1H, dd), 6.81 (1H, d), 7.04 (2H, t), 7.15 - 7.25 (3H, m), 7.39 - 7.46 (2H, m), 7.61 (1H, dd), 8.27 (1H, m), 8.79 (1H, d), 8.87 (1H, dd), 9.05 (1H, d).

20

MS (ES+) m/z 650.1 (M+H)⁺

25

The starting material (Compound (xxxxi) in Scheme 3) was synthesised from Compound (xxxv) as shown in Scheme 3 using the following method. Compound xxxv itself was obtained as described in example 21 of PCT/GB98/00230 and summarised in Scheme 3.

30

- 31 -

Compound (xxxv) in Scheme 3 (20g) was dissolved in triethyl phosphite (100 ml) and heated to 160°C under a nitrogen atmosphere for 18 hours. The solution was evaporated to dryness and the residue was dissolved in dichloromethane and applied directly to a silica flash column and eluted with ethyl acetate/iso-hexane(50:50,100:0) to give Compound 5 (xxxvi) as a colourless crystalline solid(19.4g).

Compound (xxxvi) in Scheme 3:

¹H NMR data (DMSO d₆) δ : 1.15 (6H, t), 2.79 (2H, t), 3.10 (2H, t), 3.24 (2H, d), 3.81 (3H, s), 3.88 - 3.98 (4H, m), 7.02 - 7.10 (2H, m), 7.16 - 7.27 (3H, m), 7.35 - 7.40 (1H, m), 7.72 10 (1H, s).

MS (ES+) m/z 409.3 (M+H)⁺

Compound (xxxvi) in Scheme 3 (17.5g) was dissolved in tetrahydrofuran (500 ml) and 15 cooled to -50°C under a nitrogen atmosphere. n-Butyl lithium (1.6M)(26.9 ml) was slowly added at -40°C followed by Compound (x)(18.5 g) as a solution in tetrahydrofuran (100 ml). The mixture was then allowed to warm to 0°C. Aqueous saturated ammonium chloride solution (300 ml) was then added and the organics were separated and dried over magnesium sulphate. The solution was evaporated to dryness and the residue dissolved in 20 dichloromethane and purified by flash column chromatography eluting with ethyl acetate/iso-hexane (20:80,30:70) to give Compound (xxxvii) in Scheme 3 as a colourless solid foam(10.4g).

Compound (xxxvii) in Scheme 3:

25 ¹H NMR data (DMSO d₆) δ : 1.16 - 1.30 (10H, m), 1.52 - 1.65 (1H, m), 2.68 - 2.80 (5H, m), 3.04 - 3.14 (2H, m), 3.80 (3H, s), 4.04 (1H, m), 6.12 (1H, dd), 6.34 (1H, d), 7.06 (2H, t), 7.15 - 7.40 (18H, m), 7.48 (1H, dd), 7.74 (1H, d).

MS (ES+) m/z 728.8 (M+H)⁺

30

Compound (xxxvii) in Scheme 3 was converted to Compound (xxxxi) in Scheme 3 using a method analogous to that described in Example 1 for the preparation of Compound (xv) in Scheme 1 using the appropriate intermediates.

5 Compound (xxxviii) in Scheme 3:

¹H NMR data (DMSO d₆) δ : 1.14 - 1.35 (10H, m), 1.53 - 1.66 (1H, m), 2.68 - 2.81 (5H, m), 3.10 (2H, t), 4.04 (1H, m), 6.10 (1H, dd), 6.34 (1H, d), 7.05 (2H, t), 7.14 - 7.39 (18H, m), 7.43 (1H, d), 7.76 (1H, s), 12.90 (1H, br s).

10 MS (ES-) m/z 712.6 (M-H)⁻

Compound (xxxx) in Scheme 3:

MS (ES+) m/z 645.6 (M+H)⁺

15

Compound (xxxxi):

MS (ES+) m/z 750.6 (M+H)⁺

Example 5

20 Pharmaceutical compositions

The following illustrate representative pharmaceutical dosage forms of the invention as defined herein (the active ingredient being termed "Compound X"), for therapeutic or prophylactic use in humans:

25	(a)	<u>Tablet I</u>	<u>mg/tablet</u>
		Compound X.....	100
		Lactose Ph.Eur.....	182.75
		Croscarmellose sodium.....	12.0
		Maize starch paste (5% w/v paste).....	2.25
30		Magnesium stearate.....	3.0

- 33 -

5	(b)	<u>Tablet II</u>	<u>mg/tablet</u>
		Compound X.....	50
		Lactose Ph.Eur.....	223.75
		Croscarmellose sodium.....	6.0
		Maize starch.....	15.0
		Polyvinylpyrrolidone (5% w/v paste).....	2.25
		Magnesium stearate.....	3.0
10	(c)	<u>Tablet III</u>	<u>mg/tablet</u>
		Compound X.....	1.0
		Lactose Ph.Eur.....	93.25
		Croscarmellose sodium.....	4.0
		Maize starch paste (5% w/v paste).....	0.75
		Magnesium stearate.....	1.0
20	(d)	<u>Capsule</u>	<u>mg/capsule</u>
		Compound X.....	10
		Lactose Ph.Eur.....	488.5
		Magnesium.....	1.5
25	(e)	<u>Injection I</u>	<u>(50 mg/ml)</u>
		Compound X.....	5.0% w/v
		1M Sodium hydroxide solution.....	15.0% v/v
		0.1M Hydrochloric acid	
		(to adjust pH to 7.6)	
		Polyethylene glycol 400.....	4.5% w/v
30		Water for injection to 100%	

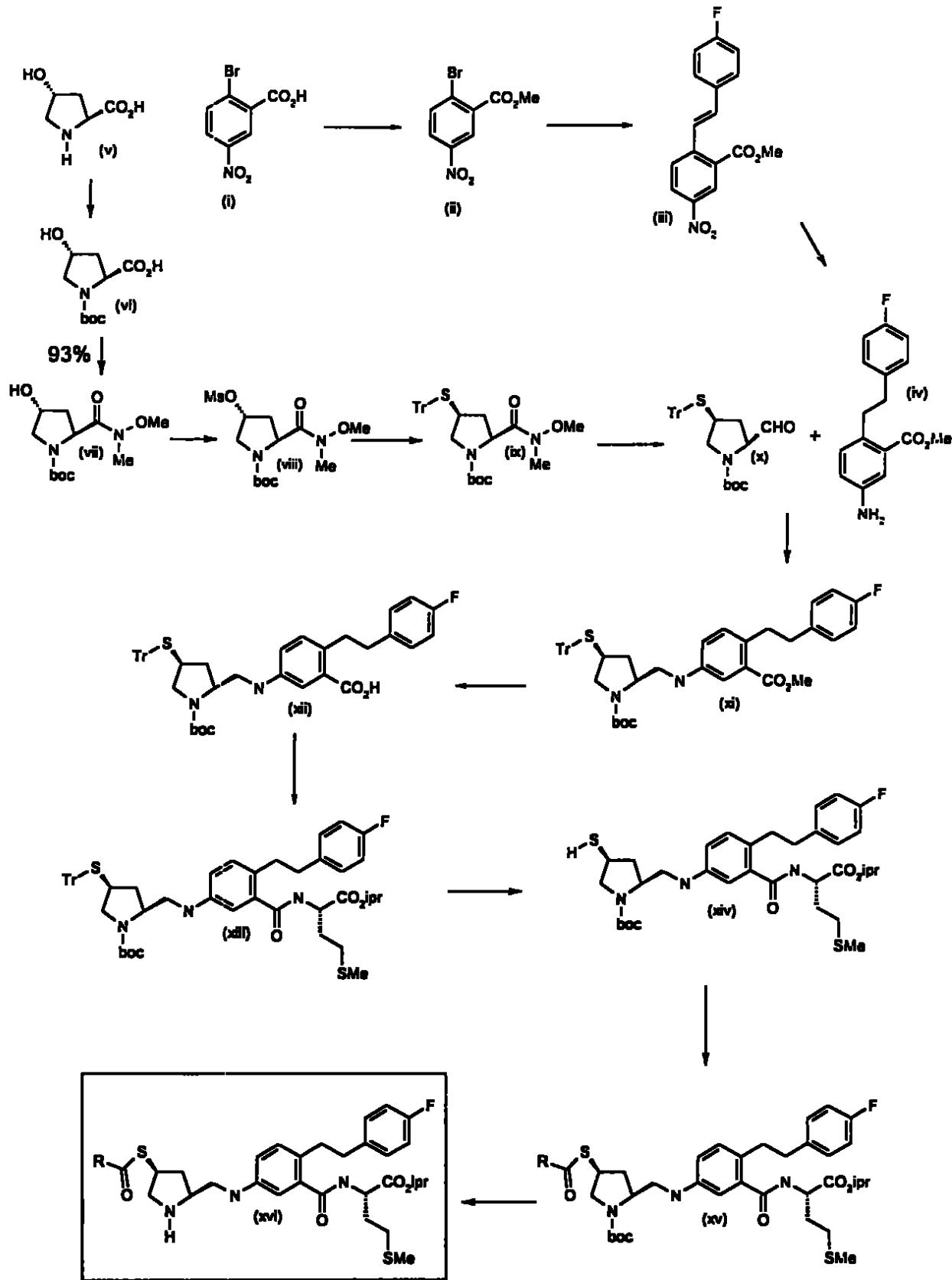
	(f)	<u>Injection II</u>	(10 mg/ml)
		Compound X.....	1.0% w/v
		Sodium phosphate BP.....	3.6% w/v
		0.1M Sodium hydroxide solution.....	15.0% v/v
5		Water for injection to 100%	
	(g)	<u>Injection III</u>	(1mg/ml, buffered to pH6)
		Compound X.....	0.1% w/v
		Sodium phosphate BP.....	2.26% w/v
10		Citric acid.....	0.38% w/v
		Polyethylene glycol 400.....	3.5% w/v
		Water for injection to 100%	
	(h)	<u>Aerosol I</u>	mg/ml
15		Compound X.....	10.0
		Sorbitan trioleate.....	13.5
		Trichlorofluoromethane.....	910.0
		Dichlorodifluoromethane.....	490.0
	(i)	<u>Aerosol II</u>	mg/ml
20		Compound X.....	0.2
		Sorbitan trioleate.....	0.27
		Trichlorofluoromethane.....	70.0
		Dichlorodifluoromethane.....	280.0
		Dichlorotetrafluoroethane.....	1094.0
25			
	(j)	<u>Aerosol III</u>	mg/ml
		Compound X.....	2.5
		Sorbitan trioleate.....	3.38
		Trichlorofluoromethane.....	67.5
30		Dichlorodifluoromethane.....	1086.0
		Dichlorotetrafluoroethane.....	191.6

5	(k)	<u>Aerosol IV</u>	<u>mg/ml</u>
		Compound X.....	2.5
		Soya lecithin.....	2.7
		Trichlorofluoromethane.....	67.5
		Dichlorodifluoromethane.....	1086.0
10	(l)	<u>Ointment</u>	<u>ml</u>
		Compound X.....	40 mg
		Ethanol.....	300 µl
		Water.....	300 µl
		1-Dodecylazacycloheptan-2-one.....	50 µl
15		Propylene glycol.....	to 1 ml

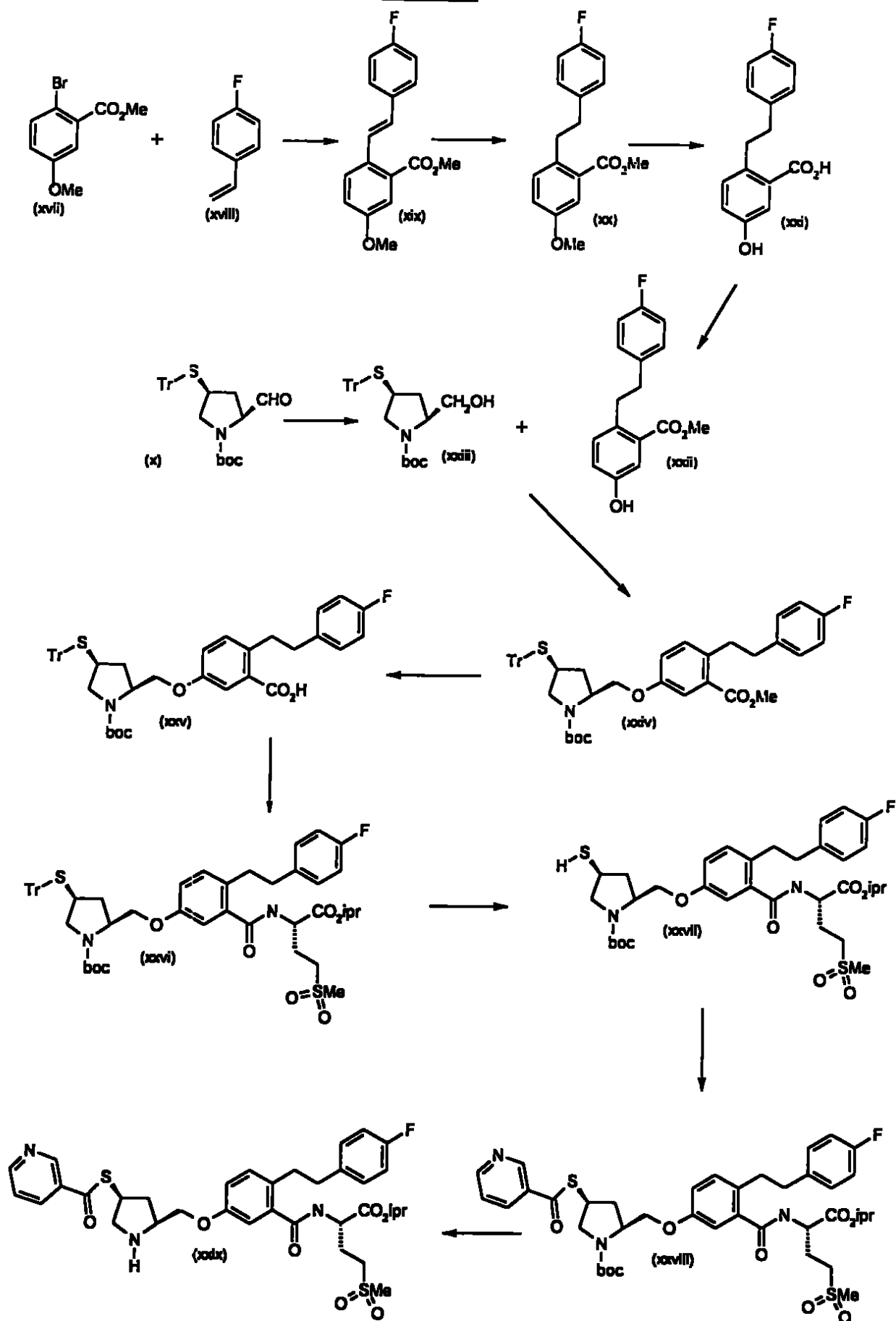
Note

The above formulations may be obtained by conventional procedures well known in the pharmaceutical art. The tablets (a)-(c) may be enteric coated by conventional means. for example to provide a coating of cellulose acetate phthalate. The aerosol formulations (h)-(k) may be used in conjunction with standard, metered dose aerosol dispensers, and the suspending agents sorbitan trioleate and soya lecithin may be replaced by an alternative suspending agent such as sorbitan monooleate, sorbitan sesquioleate, polysorbate 80, polyglycerol oleate or oleic acid.

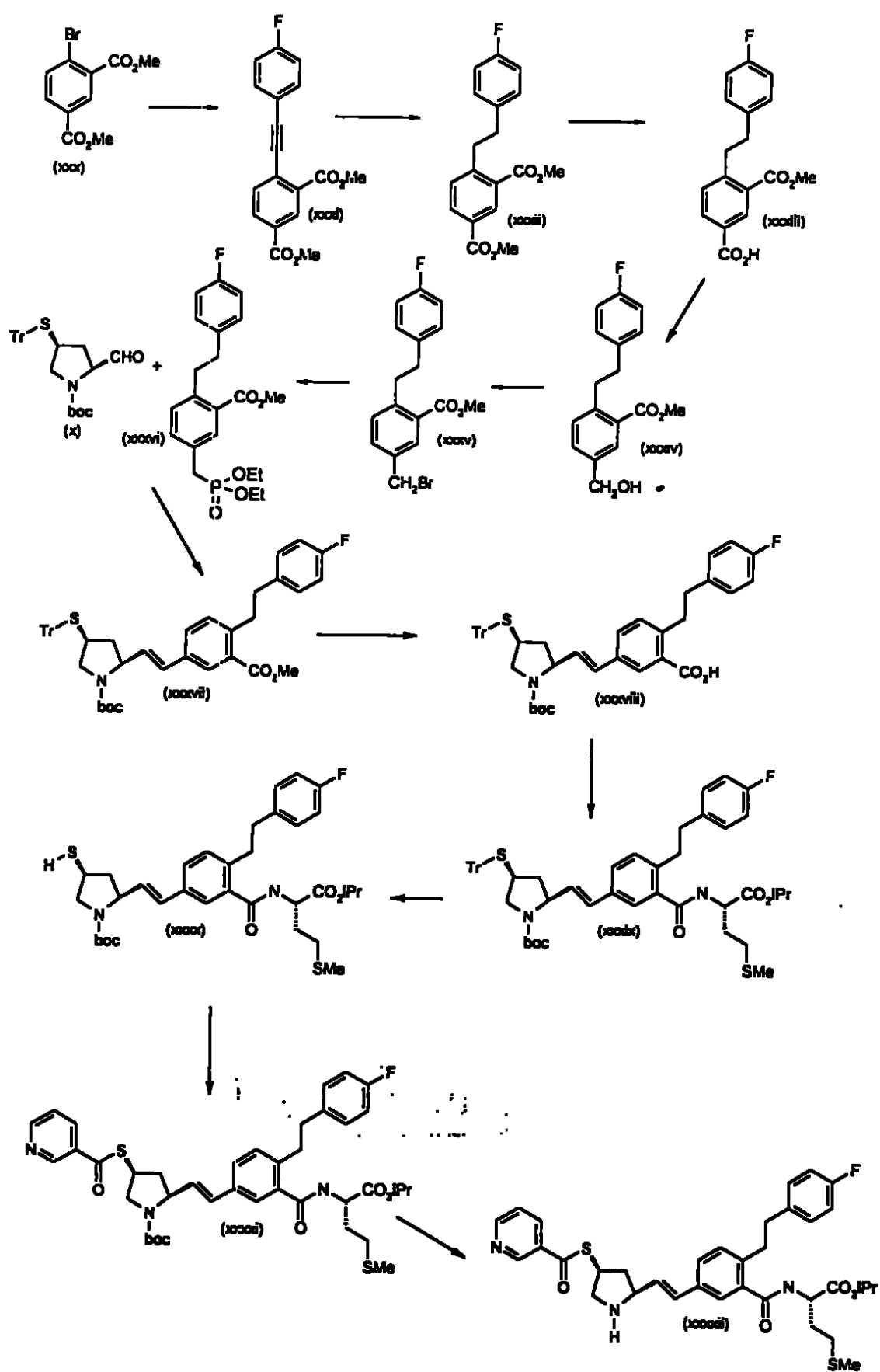
Scheme 1



Scheme 2



Scheme 3



TRADUCCIÓN DEL INGLÉS AL CASTELLANO de la Solicitud de
Patente Británica No.9930318.2 relacionada con:

COMPUESTOS NOVEDOSOS

ANEXOS: La solicitud de Patente Británica No. 9930318.2 arriba
mencionada, Certificación de la Oficina de Patentes de Londres,
Inglaterra.

**LA
OFICINA DE
PATENTES**

La Oficina de Patentes
Concept House
Cardiff Road
Newport
South Wales
NP10 8QQ

Yo, el suscrito, como funcionario debidamente autorizado de
acuerdo con la Sección 74(1) y (4) de la Ley de Regulación y
Contratación de 1994, para firmar y expedir certificaciones a nombre del
Contralor General, por medio de la presente certifico que se encuentra
anexa una fiel copia de los documentos tal como fueron originalmente
presentados, en conexión con la solicitud de patente identificada en ella.

De acuerdo con las Normas de Patentes de 1982 (Re-registro de
Compañías), si una compañía nombrada en esta certificación y
cualesquiera documentos que la acompañan ha sido re-registrada bajo la
Ley de Compañías de 1980 con el mismo nombre a aquel con el que fue
registrada inmediatamente antes del re-registro, salvo por la sustitución, o
la inclusión en la última parte del nombre de las palabras "compañía
pública limitada" o sus equivalentes en Galés, las referencias al nombre de
la compañía en esta certificación y cualesquiera documentos que la
acompañan serán tratadas como referencias al nombre con el cual ésta así
se re-registra.

De acuerdo con las normas, las palabras "compañía pública
limitada" pueden reemplazarse por p.l.c., P:L:C: o PLC.

El re-registro bajo la Ley de Compañías no constituye una nueva
entidad legal sino que meramente somete la compañía a algunas normas
adicionales de la Ley de Compañías.

2 go 89

Firmado (ILEGIBLE)
Fechado 10 Noviembre 2000

SELLO EN RELIEVE ADHERIDO CON CINTA

Agencia Ejecutiva del Departamento de Comercio e Industria

GB9930318.2

En virtud de una directriz dada bajo la Sección del Acta de Patentes 1877,
la solicitud procede a nombre de
ASTRAZENECA UK LIMITED
Incorporada en El Reino Unido
15 Stanhope Gate
LONDRES
W1Y 6LN
Reino Unido

ADP No. 07810294001

Acta Forma 1/77

La
Oficina de
Patentes

Solicitud para la concesión de una patente
*Ver notas en la parte posterior de esta forma. Usted
puede también obtener un folleto explicativo de la
Oficina de Patentes para ayudarle a llenar esta forma*

SELLO DE RADICACIÓN DE LA OFICINA DE PATENTES
22 DIC 1999

23DIC99 E501358-1 D02934
P01/7700 0.00-9900313.2

1. Su Referencia PHM99-155

2. Número de Solicitud de Patente	9930318.2
<i>(La Oficina de Patentes llenará en esta parte)</i>	22 DIC 1999

**3. Nombre completo, dirección
y código postal de los o de cada
solicitante (subrayar todos los
apellidos)**

Zeneca Limited

15 Stanhope Gate
London, W1Y 6LN

Gran Bretaña

Número ADP de Patentes
(si lo conoce)

6254007002

Si el solicitante es un nombre
corporativo, proporcione el
país/estado de incorporación

4. Título de la Invención: **COMPUESTOS NOVEDOSOS**

5. Nombre del agente (si tiene uno) **BROWN, Andrew Stephen**

“Dirección para servicio” en el
Reino Unido a la cual se debe
enviar la correspondencia
(incluyendo el código postal)

**Global Intellectual Property
AstraZeneca PLC
Mereside, Alderley Park
Macclesfield Cheshire SK10 4TG
Gran Bretaña**

Número ADP de Patentes
(si tiene uno)

7259257002

6. Si está usted reivindicando
prioridad de una o más solicitudes
previas de patente, proporcione
el país y la fecha de presentación
de las o de cada una de estas
solicitudes previas (si los conoce)
el o los números de solicitud

País Número de la solicitud de prioridad
(si lo conoce)

Fecha de presentación
(día/mes/año)

7. Si esta solicitud se divide o se
deriva de alguna otra forma de
una solicitud previa del Reino
Unido proporcione el número y
la fecha de presentación de la
solicitud previa

Número de solicitud previa

Fecha de presentación
(día/mes/año)

8. Se requiere de una declaración de
inventoría o de derecho a la concesión
de patente como soporte de esta solicitud?

4
Gt 91

(conteste "SI" si:

a) si cualquiera de los solicitantes nombrados en la parte 3 no es inventor, o

b) hay un inventor que no ha sido nombrado como solicitante, o

c) cualquier solicitante mencionado es un cuerpo corporativo.

Ver nota (d))

9. Coloque el número de hojas para cada uno de los tipos siguientes de documentos contenidos en esta forma. No cuente las copias del mismo documento.

Hojas de continuación para esta forma	
Descripción	35
Reivindicación(es)	
Extracto	
Dibujo(s)	3 + 3

10. Si usted también está presentando algunos de los siguientes documentos establezca cuantos de cada uno

Documentos de prioridad

Traducciones de los documentos de prioridad

Declaración de inventor y Derecho de concesión

(Forma 7/77 de Patentes)

Solicitud de examen y búsqueda preliminar

(Forma 9/77 de Patentes)

Solicitud de examen sustantivo

(Forma 10/77 de Patentes)

Cualquier otro documento

Por favor especifique

11. Yo /Nosotros Solicito /Solicitamos la concesión de una Patente sobre la base de esta solicitud

Firma Lynda M. Slack Fecha 21/Dic/99

12. Nombre y número de teléfono durante el día de una persona para contactar en el Reino Unido

MRS LINDA M SLACK
01625516173

Advertencia

Después de que se ha presentado una solicitud de Patente, el Contralor de la Oficina de Patentes considerará si deberá prohibirse o restringirse la publicación o comunicación bajo la Sección 22 del Acta de Patentes de 1977 e informará al solicitante si es necesaria dicha prohibición. Se

advierde además a los solicitantes residentes en el Reino Unido que de acuerdo con la Sección 23 no se pueden presentar solicitudes en el extranjero sin previa autorización escrita a menos que una solicitud haya sido presentada no menos de 6 semanas previas en el Reino Unido, para una Patente para la misma invención y no se haya proferido directriz prohibiendo la publicación o comunicación, o cualquier directriz en tal sentido haya sido revocado.

Notas

- a) Si necesita ayuda para llenar esta forma o tiene algunas preguntas, por favor contacte a la Oficina de Patentes al 06545 500505
 - b) Escriba sus respuestas en mayúsculas utilizando tinta negra o puede mecanografiarlas.
 - c) Si no tiene suficiente espacio para todos los detalles relevantes en cualesquier parte de esta forma, por favor continúe sobre una hoja separada de papel y escriba "ver hoja de continuación" en la(s) parte(s) relevante(s). Cualquier hoja de continuación debe anexarse a esta forma.
 - d) Si usted ha contestado "SI" debe llenar la Forma de Patentes 7/77
 - e) Una vez haya llenado la forma debe recordar firmarla y fecharla.
 - f) Para detalles de los impuestos y formas de pago por favor contacte a la Oficina de Patentes.
-

COMPUESTOS NOVEDOSOS

Esta invención se relaciona con compuestos que inhiben la farnesilación de productos de genes a través de la inhibición de la enzima transferasa de proteína farnesil (FPTase). La invención también se relaciona con métodos de fabricar los compuestos, composiciones farmacéuticas y métodos de tratar enfermedades, especialmente cáncer, que son mediadas a través de farnesilación.

Se considera que el cáncer involucra la alteración en la expresión o función del control de genes que controlan el crecimiento y diferenciación de células. Aunque no se desea estar ligado por consideraciones teóricas la siguiente prueba establece el antecedente científico ras en cáncer. Los genes ras mutan frecuentemente en tumores. Los genes ras codifican proteínas de enlace trifosfato guanosine (GTP) las cuales se consideran como involucradas en la traducción de señal, proliferación y transformación maligna. Los genes H-, K- y N-ras se han identificado como formas mutantes de ras (Barbacid M, Ann. Rev. Biochem. 1987, 56: 779-827). La modificación post-translacional de proteína ras se requiere para actividad biológica. La farnesilación de ras catalizada por

FPTase se considera un paso esencial en el procesamiento ras. Ocurre mediante transferencia del grupo farnesil de pirofosfato farnesil (FPP) a una cisteína en el tetrapéptido C terminal de ras en un motivo estructural llamado la caja CAAX. Después de adicionales modificaciones post-translacionales, incluyendo hendidura proteolítica el residuo cisteína de la caja CAAX y metilación de cisteína carboxil, ras es capaz de unirse a la membrana de células para retraso de señales de crecimiento al interior de las células. En células normales activadas se considera que ras actúa en conjunción con factores de crecimiento para estimular el crecimiento de células. En células de tumores se considera que las mutaciones en ras causan que estimule la división de células aún en la ausencia de factores de crecimiento (Travis J, Science 1993, 260: 1877-1878), posiblemente a través de estar permanentemente en forma activada GTP más que ciclada en retroceso a forma inactivada GDP. La inhibición de farnesilación de productos de genes ras mutantes pararán o reducirán la activación.

Una clase de inhibidores conocidos de transferasa farnesil se basa en análogos de pirofosfato farnesil; ver por ejemplo la solicitud de patente Europea EP 534546 de Merck. Los inhibidores de transferasa farnesil basados en mimicry de la caja CAAX se han reportado. Reiss (1990) en Células 62, 81-8 divulga tetrapéptidos tales como CVIM (Cys-Val-Ile-Met). James (1993) en Science 260, 1937-1942 divulga compuestos peptidomiméticos basados en benzodiazepina. Lemer (1 995) en J. Biol. Chem. 270, 26802 y Eisai en la Solicitud de Patente Internacional WO 95/25086 divulga adicionales compuestos peptidomiméticos basados en Cys como el primer residuo. La EP 696593 y PCT/GB96/01810 divulgan adicionales inhibidores de transferasa farnesil, incluyendo derivados de pirrolidina. Adicionalmente, un rango de inhibidores de farnesilación ras se describen y reivindican en PCT/GB99/00369.

Los solicitantes han encontrado que una particular sustitución de la pirrolidina proporciona ventajas particulares en términos de transferasa farnesil.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención se proporciona un compuesto de fórmula (1)

(ver fórmula en el original traducido)

donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente a partir de H o una fracción prodroga;

R^3 es hidrógeno o halógeno;

R^4 es hidrógeno o halógeno;

L es $-\text{CH}=\text{CH}-$ o $-\text{CH}_2-\text{Z}-$ donde Z es NH o O;

Y es S, S(O) o S(O)₂;

o una sal de él.

Tal como se utiliza aquí, el término "alquil" se refiere a grupos de cadena recta o ramificada, los cuales pueden, a menos que se establezca de otra forma tener desde 1 a 20 y preferiblemente desde 1 a 6 átomos de carbono. El término "arilo" incluye fenil. El término "halo" incluye fluoro, cloro, bromo y yodo.

El término "heterocilil" o "heterocíclico" incluye grupos que tienen desde 4 a 10 átomos de anillo, hasta 5 de los cuales se seleccionan a partir de oxígeno, azufre y nitrógeno. Los anillos pueden ser mono, o bicíclico y cada anillo puede ser de carácter aromático o no aromático.

Los átomos de nitrógeno pueden sustituirse si la valencia del anillo lo permite, con ya sea un hidrógeno o grupo sustituyente, tal como un sustituyente alquil. Los átomos de azufre en un anillo heterocíclico pueden oxidarse a grupos $S(O)$ o $S(O)_2$.

Ejemplos de sistemas de anillos heterocíclicos aromáticos de 5 o 6 miembros incluyen imidazolo, triazolo, pirazina, pirimidina, piridazina, piridina, isoxazolo, oxazolo, isotiazolo, tiazolo y tiofeno. Un sistema de anillos heteroarilo bicíclico de 9 o 10 miembros es un sistema de anillos bicíclico aromático que comprende un anillo de 6 miembros fundido a ya sea un anillo de 5 miembros u otros anillo de 6 miembros. Ejemplos de sistemas de anillos bicíclicos de 5/6 y 6/6 incluyen benzofuran, benzimidazolo, benztiofeno, benzthiazolo, benzisotiazolo, benzoxazol, benzisoxazolo, piridoimidazolo, pirimidoimidazolo, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina, cinolina y naftiridina.

Preferiblemente los anillos monocíclicos heteroarilo contienen hasta 3 heteroátomos y los anillos bicíclicos heteroarilo contienen hasta 5 heteroátomos. Preferidos heteroátomos son N y S, especialmente N. En general, la unión de anillos heterocíclicos a otros grupos es vía de átomos de carbono. Adecuados grupos heterocíclicos que contienen únicamente N como el heteroátomo son pirrolo, piridina, indolo, quinolina, isoquinolina, imidazolo, pirazina, pirimidina, purina y pteridina.

Formas hidrogenadas u otras sustituidas de los anillos aromáticos de arriba, (los cuales no son aromáticos), tales como anillos de pirrolidina, piperidina o morfolina son ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos.

Varias formas de prodrogas son conocidas en el arte. Para ejemplos de dichos derivados de prodrogas, ver:

95
195

- a) Diseño de Prodrogas, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) y Métodos en Enzimología, Vol. 42, p. 309-396, editado por K. Widder, y otros (Academic Press, 1985);
- b) Un Texto del Diseño y Desarrollo de Drogas, editado por Krogsgaard-Larsen;
- c) H. Bundgaard, Capítulo 5 "Diseño y Aplicación de Prodrogas", de H. Bundgaard p. 113-191 (1991);
- d) H. Bundgaard, Revistas de Suministro Avanzado de Drogas, 8, 1-38 (1992);
- e) H. Bundgaard, y otros, Diario de Ciencias Farmacéuticas, 77, 285 (1988); y
- f) N. Kakeya, y otros, Chem Pharm Bull, 32, 692 (1984).

Adecuados ejemplos de grupos R^1 son hidrógeno o grupos de prodrogas de fórmula $R^5C(O)$ donde R^5 es un grupo arilo o heterociclilo opcionalmente sustituido. En particular R^5 es fenil opcionalmente sustituido, piridilo opcionalmente sustituido, furil opcionalmente sustituido, isoxazolo opcionalmente sustituido, tetrahidropiridil opcionalmente sustituido, o tetrahidrofuril opcionalmente sustituido.

Adecuados sustituyentes para R^5 incluyen grupos alquil tales como metil, grupos haloalquil tales como trifluorometil, hidroxil, alcoxi tales como metoxi o ciano.

Preferiblemente R^5 es fenil, piridilo o N-metilpiperidina.

Ejemplos de grupos de prodrogas para R^2 son grupos éster hendidos en vivo de un éster farmacéuticamente aceptable el cual es hendido en el cuerpo humano o animal para producir el ácido pariente. Adecuadamente R^2 conjuntamente con el grupo carboxi y el grupo al cual está unido forma ésteres farmacéuticamente aceptables tales como C_{1-6} alquil ésteres o C_{1-6} cicloalquil ésteres, por ejemplo metil, etil, propil, iso-propil, n-butil o ciclopentil; C_{1-6} alcoximetil ésteres, por ejemplo metoximetil; C_{1-6} alcanoiloximetil ésteres, por ejemplo pivaloiloximetil; ftalidil ésteres; C_{3-8} cicloalcoxycarboniloxi C_{1-6} alquil ésteres, por ejemplo 1-ciclohexilcarboniloxietil; 1,3-dioxolan-2-ilmetil ésteres, por ejemplo 5-metil-1,3-dioxolan-2-ilmetil; C_{1-6} alcoxycarboniloxietil ésteres, por ejemplo 1-metoxycarboniloxietil; aminocarbonilmetil ésteres y mono o sus versiones di-N-(C_{1-6} alquil), por ejemplo N,N-dimetilaminocarbonilmetil ésteres y N-etilaminocarbonilmetil ésteres, y ésteres farmacéuticamente aceptables de opcionalmente sustituidos grupos heterocíclicos.

Adicionales ejemplos de dichas prodrogas para R^2 son amidas henchidas en vivo de un compuesto de la invención. Adecuadamente R^2

conjuntamente con el grupo carboxi al cual está unido forma una amida farmacéuticamente aceptable, preferiblemente una N-C₁₋₆alquilamida y una N,N-di-(C₁₋₆alquil)amida, tal como N-metil, N-etil, N-propil, N,N-dimetil, N-etil-N-metil o N,N-dietilamida.

Consecuentemente en particular, R² se selecciona a partir de hidrógeno, un grupo C₁₋₄alquil tal como isopropil o ciclopentil, o un opcionalmente sustituido grupo heterocíclico tal como N-metil tetrahidropiridilo.

R³ es adecuadamente un átomo halo en particular flúor.

R⁴ es preferiblemente un hidrógeno o flúor, y en particular es hidrógeno.

El grupo de enlace L es preferiblemente un grupo de la fórmula CH₂-Z- donde Z es N-H o O.

El grupo Y es preferiblemente un grupo S, S(O) o S(O)₂.

Debe entenderse que, en la medida en que algunos de los compuestos de la Fórmula I definida arriba pueden existir en formas ópticamente activas o racémicas en virtud de uno o más átomos de carbono asimétricos, la invención incluye en su definición cualquiera de dichas formas ópticamente activas o racémica que poseen la propiedad de inhibir la FTPase. La síntesis de las formas ópticamente activas pueden llevarse a cabo mediante técnicas estándares de química orgánica bien conocidas en el arte, por ejemplo mediante síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos o mediante resolución de una forma racémica. Similarmente, las propiedades inhibitorias contra la FTPase pueden evaluarse utilizando técnicas estándares de laboratorio las cuales se refieren posteriormente.

Átomos de carbono quirales en las posiciones 2 y 4 del anillo de pirrolidina en la Fórmula I se prefieren en la configuración (S).

El átomo de carbono quiral en la posición 2 entre el carbonil y amina en Fórmula I se prefiere en la configuración (S).

Los compuestos de la Fórmula I pueden formar sales que están dentro del ámbito de la invención. Las sales farmacéuticamente aceptables se prefieren aunque otras sales pueden ser útiles en, por ejemplo, aislar o purificar compuestos.

Cuando el compuesto contiene una fracción básica puede formar sales farmacéuticamente aceptables con una variedad de ácidos inorgánicos u orgánicos, por ejemplo ácido clorhídrico, hidrobromico, azufreico, fosfórico, trifluoroacético, cítrico o maleico. Una sal adecuada farmacéuticamente aceptable de la invención cuando el compuesto contiene una fracción ácida es una sal de metal alcalino, por ejemplo una sal de sodio o potasio, una sal de metal alcalinotérreo, por ejemplo una sal de calcio o magnesio, una sal de amonio o una sal con una base orgánica que logra un catión farmacéuticamente aceptable, por ejemplo una sal con metilamina, dimetilamina, trimetilamina, piperidina, morfolina o tris-(2-hidroxietil)amina. Sales particulares de compuestos de la invención son los acetatos, alquil sulfonatos tales como sulfonato de metil o etil, fumaratos, formatos, suceinatos y gluconatos.

Los solvatos, por ejemplo hidratos, están también dentro del ámbito de la invención y pueden prepararse mediante métodos generalmente conocidos.

Particulares ejemplos de compuestos de la fórmula (I) se muestran en la Tabla I

(ver fórmula en el original traducido)

Tabla I

(ver Tabla I en el original traducido)

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un compuesto de Fórmula I para uso como un medicamento.

Adicionalmente de acuerdo con la invención se proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad mediada a través de farnesilación de ras, en particular cáncer.

El compuesto es formulado adecuadamente como una composición farmacéutica para uso en esta forma.

Consecuentemente, de acuerdo con aún otro aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I listados arriba conjuntamente con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención se proporciona un método de tratar enfermedades mediadas de ras,

especialmente cáncer, administrando una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I a un mamífero en necesidad de dicho tratamiento.

De acuerdo con una adicional característica de la invención se proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de él, para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento de enfermedad o condición médica mediada farnesilada tal como cánceres.

Cánceres específicos que pueden tratarse mediante el compuesto o composición de la invención incluyen:

- carcinoma, incluyendo el de la vejiga, seno, colon, riñón, hígado, pulmón, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides y piel;
- tumores hematopoiéticos de la línea linfática, incluyendo leucemia aguda linfocítica, linfoma de células B y linfoma de Burketts;
- tumores hematopoiéticos de línea mieloide, incluyendo leucemias mielogéneas agudas y crónicas y leucemia promielocítica;
- tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; y
- otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, tetratocarcinoma, neuroblastoma y glioma.

Los compuestos de Fórmula I son especialmente útiles en el tratamiento de tumores que tienen alta incidencia en mutación de ras, tal como tumores de colon, pulmón, y pancreático. Mediante la administración de una composición que tie4en uno (o una combinación) de los compuestos de esta invención, se reduce el desarrollo de tumores en un huésped mamífero.

Los compuestos de Fórmula I pueden también ser útiles en el tratamiento de enfermedades diferentes al cáncer que pueden asociarse con trayectorias de transducción de señales que operan a través de Ras, por ejemplo, neuro-fibromatosis.

Los compuestos de Fórmula I pueden también ser útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas con proteínas que contienen CAAX diferentes a Ras (por ejemplo, laminas nucleares y transducina) que son también modificadas post-translacionalmente por la transferasa de proteína farnesil enzima.

Las composiciones de la invención pueden estar en forma adecuada para uso oral (por ejemplo como tabletas, píldoras, cápsulas duras o blandas, suspensiones acuosas o aceitosas, emulsiones, polvos dispersables o gránulos, jarabes o elixires), para uso tópico (por ejemplo como cremas, ungüentos, geles, o soluciones o suspensiones acuosas o aceitosas), para administración por inhalación (por ejemplo como un polvo finamente dividida o un aerosol líquido), para administración por insuflación (por ejemplo como un polvo finamente dividido) o para administración parenteral (por ejemplo como una solución estéril acuosa o aceitosa para dosificación intravenosa, subcutánea, intramuscular o con un supositorio para dosificación rectal).

Las composiciones de la invención pueden obtenerse mediante procedimientos convencionales utilizando excipientes convencionales farmacéuticos, bien conocidos en el arte. Consecuentemente, las composiciones pretendidas para uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, edulcorantes, saborizantes y/o preservativos.

Adecuados excipientes farmacéuticamente aceptables para una formulación en tabletas incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes tales como lactosa, carbonato de sodio, fosfato de calcio o carbonato de calcio, agentes de granulación y desintegración tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes de enlace tales como almidón; agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco; agentes preservativos tales como etil o propil p-hidroxibenzoato, y antioxidantes, tales como ácido ascórbico. Formulaciones en tabletas pueden ser revestidas o no revestidas ya sea para modificar su desintegración y la subsecuente absorción del ingrediente activo dentro del tracto gastrointestinal, o para mejorar su estabilidad y/o apariencia, en cualquier caso, utilizando agentes de revestimiento convencionales y procedimientos bien conocidos en el arte.

Las composiciones para uso oral pueden estar en forma de cápsulas duras de gelatina donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas blandas de gelatina donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un aceite como aceite de maní, parafina líquida, o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas generalmente contienen el ingrediente activo en forma finamente polvosa conjuntamente con uno o más agentes de suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma

tragacanto y goma acacia; agentes de dispersión o humectantes tales como lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos (por ejemplo estearato polioxietileno), o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados a partir de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato sorbitol de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados a partir de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato sorbitol de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados a partir de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato polietileno sorbitan. Las suspensiones acuosas pueden también contener uno o más preservativos (tal como etil o propil p-hidroxibenzoato, anti oxidantes (tal como ácido ascórbico), agentes colorantes, agentes saborizantes, y/o agentes edulcorantes (tal como sacarosa, sacarina o aspartame).

Las suspensiones aceitosas pueden formularse suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal (tal como aceite de arracacha, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco) o un aceite mineral (tal como parafina líquida). Las suspensiones aceitosas pueden también contener un agente espesante tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetil. Agentes edulcorantes tal como aquellos establecidos arriba y agentes saborizantes pueden agregarse para proporcionar una preparación oral paladeable. Estas composiciones pueden preservarse mediante la adición de un anti oxidante tal como ácido ascórbico.

Polvos dispersables y gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua contienen generalmente el ingrediente activo conjuntamente con un agente de dispersión o humectante, agente de suspensión y uno o más preservativos. Adecuados agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión se ejemplifican mediante aquellos ya mencionados arriba. Adicionales excipientes tales como agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes, pueden también estar presentes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden también estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de oliva o aceite de arracacha, o un aceite mineral, tal como por ejemplo parafina líquida o una mezcla de cualquiera de éstos. Adecuados agentes emusificantes pueden ser, por ejemplo, gomas que ocurren naturalmente tales como goma acacia goma

102

tragacanto, fosfátidos que ocurren naturalmente tales como frijol de soya, lecitina, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol (por ejemplo monooleato de sorbitan) y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno tal como monooleato de sorbitan polioxietileno. Las emulsiones pueden también contener agentes edulcorantes, saborizantes y preservativos.

Jarabes y elíxires pueden formularse con agentes edulcorantes tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol, aspartame o sacarosa, y pueden también contener un agente desmulcente, preservativo, saborizante y/o colorante.

Las composiciones farmacéuticas pueden también estar en forma de un suspensión acuosa o aceitosa estéril inyectable, la cual puede formularse de acuerdo con procedimientos conocidos utilizando uno o más de los apropiados agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión, los cuales se han mencionado arriba. una preparación estéril inyectable puede también ser una solución o suspensión estéril inyectable en un diluyente o diluyente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo una solución en 1,3-butanediol.

Formulaciones en supositorios pueden prepararse mezclando el ingrediente activo con un adecuado excipiente no irritante el cual es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y se fundirá consecuentemente en el recto para liberar la droga. Adecuados excipientes incluyen, por ejemplo, mantequilla de cacao y polietilenglicoles.

Las formulaciones tópicas, tales como cremas, ungüentos, geles y soluciones o suspensiones acuosas o aceitosas, pueden generalmente obtenerse formulando un ingrediente activo con un vehículo o diluyente convencional, tópicamente aceptable, utilizando un procedimiento convencional bien conocido en el arte.

Las composiciones para administración por aislamiento pueden estar en forma de un polvo finamente dividido que contiene partículas de diámetro promedio de, por ejemplo, 30μ o mucho menor, el polvo mismo que comprende ya sea ingrediente activo solo o diluido con uno o más portadores fisiológicamente aceptables tales como lactosa. El polvo para aislamiento es retenido entonces convenientemente en una cápsula que contiene, por ejemplo, 1 a 50 mg de ingrediente activo para uso con un dispositivo turbo-inhalador, tal como el que se utiliza para aislamiento del conocido agente cromoglicato de sodio.

Las composiciones para administración por inhalación pueden estar en forma de un aerosol convencional presurizado dispuesto para dispensar el ingrediente activo ya sea como un aerosol que contiene sólido finamente dividido o pequeñas gotas de líquido. Los propulsores de aerosol convencionales tales como hidrocarburos fluorados volátiles hidrocarburos pueden utilizarse y el dispositivo de aerosol se dispone convenientemente para dispensar una cantidad medida de ingrediente activo.

Para adicional información sobre la formulación el lector debe referirse al Capítulo 25.2 en el Volumen 5 de Química Comprehensiva Medicinal (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

La cantidad de ingrediente activo que se combina con uno o más excipientes para produce una forma de dosificación única variará necesariamente dependiendo del huésped tratado y de la ruta particular de administración. Por ejemplo, una formulación pretendida para administración oral a humanos contendrá generalmente, por ejemplo, desde 0,5 mg a 2 g de agente activo compuesto por una apropiada y conveniente cantidad de excipientes que puede variar desde alrededor de 5 hasta alrededor 98 por ciento en peso de la composición total. Las formas unitarias de dosificación contendrán generalmente alrededor de 1 mg hasta alrededor de 500 mg de un ingrediente activo. Para adicional información sobre las Rutas de Administración y Regímenes de Dosificación el lector debe referirse al Capítulo 25.3 en el Volumen 5 de Química Medicinal Comprehensiva (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

El tamaño de la dosis para propósitos terapéuticos o profilácticos de un compuesto de la Fórmula I variará naturalmente de acuerdo con la naturaleza y severidad de las condiciones, la edad y el sexo del animal paciente y la ruta de administración, de acuerdo con principios bien conocidos de medicina. Tal como se mencionó arriba, los compuestos de la Fórmula I son útiles en el tratamiento de enfermedades o condiciones médicas que se deben solas o en parte a los efectos de farnesilación de ras.

Utilizando un compuesto de la Fórmula I para propósitos terapéuticos o profilácticos se administrará generalmente en forma tal que una dosis diaria en el rango, por ejemplo, de 0,5 mg a 75 mg por kg de peso corporal se recibe, dada si se requiere en dosis divididas. En general menores dosis se administrarán cuando se emplea una ruta parenteral. Consecuentemente, por ejemplo, para administración intravenosa, una

X

dosis en el rango, por ejemplo, de 0,5 mg a 30 mg por kg de peso corporal se usará generalmente. Similarmente, para administración por inhalación, una dosis en el rango, por ejemplo, de 0,5 mg a 25 mg por kg de peso corporal se usará. Se prefiere sin embargo la administración oral.

Los compuestos de fórmula (I) definidos arriba pueden aplicarse como una única terapia o pueden involucrar, adicionalmente a un compuesto de la invención, una o más de otras sustancias y/o tratamientos. Dicho tratamiento conjunto puede llevarse a cabo mediante la administración simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. En el campo de la oncología médica es práctica normal utilizar una combinación de diferentes formas de tratamiento para tratar cada paciente con cáncer. En oncología médica el(los) otro(s) componente(s) de dicho tratamiento conjunto en adición al tratamiento inhibitorio del ciclo de células definido anteriormente puede ser: cirugía, radioterapia o quimioterapia. Dicha quimioterapia puede cubrir tres categorías principales de agente terapéutico:

(i) otros agentes inhibitorios del ciclo de células que trabajan mediante el mismo o diferentes mecanismos de aquellos definidos anteriormente;

(ii) agentes citostáticos tales como antioestrogenos (por ejemplo fulvestrant, tamoxifen, toremifene, raloxifene, droloxifene, iodoxifene), progestogenos (por ejemplo acetato megestrol), inhibidores de aromatase (por ejemplo anastrozole, letrozole, vorazole, exemestane), antiprogestogenos, antiandrogenos (por ejemplo flutamide, nilutamide, bicalutamide, acetato ciproterona), agonistas y antagonistas LHRH (por ejemplo acetato goserelin, luprolide), inhibidores de testosterona 5 α -dihidroreductasa (por ejemplo finasteride), agentes anti-invasión (por ejemplo inhibidores de metaloproteínasa como marimastat e inhibidores de la función receptora de activador de urokinase plasminogeno) e inhibidores de la función del factor de crecimiento, (dichos factores de crecimiento incluyen por ejemplo factor de crecimiento derivado de plaquetas y factor de crecimiento hepatocito, dichos inhibidores incluyen anticuerpos de factor de crecimiento, anticuerpos de receptor de factor de crecimiento, inhibidores de tyrosine kinase e inhibidores de serine/threonine kinase); y

(iii) drogas antiproliferativas/antineoplásticas y sus combinaciones, como se utilizan en oncología médica, tales como antimetabolitos (por ejemplo antifolatos como metotrexato, fluoropirimidinas como 5-fluorouracil, análogos de purina y adenosina, citosina arabinosida); antibióticos antitumores (por ejemplo antraciclinas como doxorubicina, daunomicina, epirubicina y idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina, mihramicina); derivados de platino (por ejemplo cisplatino, carboplatino); agentes de alquilación (por ejemplo mostaza de nitrógeno, melfalan,

clorambucil, busulfan, ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosoureas, tiotepa); agentes antimetabólicos (por ejemplo alcaloides vinca como vincristine y taxoides como taxol, taxotere); inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo epipodofilotoxinas como etoposide y teniposide, amsacrine, topotecan). De acuerdo con este aspecto de la invención se proporciona un producto farmacéutico que comprende un compuesto de la fórmula (I) tal como se definió arriba y una adicional sustancia anti-tumores tal como se definió anteriormente para el tratamiento conjunto de cáncer.

Aunque los compuestos de la Fórmula I son primordialmente de valor como agentes terapéuticos para uso en animales de sangre caliente (incluyendo hombres), pueden también ser útiles donde se requiera inhibir la farnesilación. Consecuentemente, pueden ser útiles como estándares farmacológicos para uso en el desarrollo de nuevas pruebas biológicas y en la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención se proporcionan individuales compuestos producidos como productos finales en los Ejemplos establecidos abajo y sus sales.

Un compuesto de la invención, o una sal de él, puede prepararse mediante cualquier proceso conocido por ser aplicable a la preparación de dichos compuestos o compuestos estructuralmente relacionados. Dichos procesos se ilustran mediante los siguientes esquemas representativos donde los grupos variables tienen cualquiera de los significados definidos para la Fórmula I a menos que se establezca de otra forma. Los grupos funcionales pueden ser protegidos y desprotegidos utilizando métodos convencionales. Para ejemplos de grupos de protección tales como amino y grupos de protección de ácido carboxílico (así como mediante la formación y eventual desprotección), ver T.W. Greene y P.G.M. Wuts, "Grupos Protectores en Síntesis Orgánica", Segunda Edición, John Wiley & Sons, New York, 1991. Notar que las abreviaciones utilizadas se han listado inmediatamente antes de los Ejemplos abajo.

Los grupos protectores pueden retirarse mediante cualquier método conveniente como se describe en la literatura o conocido por el químico experto como apropiado para el retiro del grupo de protección en cuestión, dichos métodos que se escogen en forma tal de efectuar el retiro del grupo de protección con mínimo disturbio de los grupos en cualquier parte en la molécula.

Ejemplos específicos de grupos de protección se proporcionan abajo por conveniencia, donde "inferior" significa que el grupo al cual se aplica tiene preferiblemente 1 a 4 átomos de carbono. Se deberá entender

que estos ejemplos no son exhaustivos. Cuando específicos ejemplos de métodos para el retiro de grupos de protección se proporcionan abajo estos son similarmente no exhaustivos. El uso de grupos de protección y métodos de desprotección no mencionados específicamente se encuentran por supuesto dentro del alcance de la invención.

Un grupo de protección carboxi puede ser el residuo de un alcohol alifático o aralifático formador de éster o de un silanol formador de éster (el dicho alcohol o silanol preferiblemente que contiene 1 a 20 átomos de carbono).

Ejemplos de grupos de protección carboxi incluyen grupos (1-12C) alquil de cadena recta o ramificada (por ejemplo isopropil, t-butil); grupos alcoxi inferior alquil inferior (por ejemplo metoximetil, etoximetil, isobutoximetil; grupos alquil inferior aciloxi alifático inferior, (por ejemplo acetoximetil, propioniloximetil, butiriloximetil, pivaloiloximetil); grupos alcoxicarboniloxi inferior alquil inferior (por ejemplo 1-metoxi carboniloxietil, 1-etoxicarboniloxietil); grupos arilo inferior alquil (por ejemplo p-metoxibencil, o-nitrobencil, p-nitrobencil, benzhidril y ftalidil); grupos tri(alquil inferior)silil (por ejemplo trimetilsilil y t-butildimetilsilil); grupos tri(alquil inferior)silil alquil inferior (por ejemplo trimetilsililetil); y grupos (2-6C)alquenil (por ejemplo alil y viniletil).

Métodos particularmente apropiados para el retiro de grupos carboxil de protección incluyen por ejemplo hidrólisis ácida, metálica enzimáticamente catalizada.

Ejemplos de grupos de protección hidroxil incluyen grupos de alquenil inferior (por ejemplo alil); grupos de alcanoil inferior (por ejemplo acetil); grupos de alcoxicarbonil inferior (por ejemplo t-butoxicarbonil); grupos de alqueniloxicarbonil inferior (por ejemplo alililoxicarbonil); grupos de arilo inferior alcoxicarbonil (por ejemplo benzoiloxicarbonil, p-metoxibencililoxicarbonil, o-nitrobencililoxicarbonil, p-nitrobencililoxicarbonil); grupos tri alquil/arilosilil inferior (por ejemplo trimetilsilil, t-butildimetilsilil, t-butildifenilsilil); grupos arilo inferior alquil (por ejemplo grupos bencil); y grupos triarilo inferior alquil (por ejemplo trifenilmetil).

Ejemplos de grupos de protección amino incluyen grupos formil, aralquil (por ejemplo bencil y bencil sustituido, por ejemplo p-metoxibencil, nitrobencil y 2,4-dimetoxibencil, y trifenilmetil); grupos di-p-anisilmetil y furilometil; alcoxicarbonil inferior (por ejemplo t-butoxicarbonil); alqueniloxicarbonil inferior (por ejemplo alililoxicarbonil); grupos arilo inferior alcoxicarbonil (por ejemplo bencililoxicarbonil, p-

metoxibenciloxicarbonil, o-nitrobenciloxicarbonil, p-nitrobenciloxicarbonil; trialquilsilil (por ejemplo trimetilsilil y t-butildimetilsilil); alquilideno (por ejemplo metilideno); grupos bencilideno y bencilideno sustituido.

Métodos apropiados para el retiro de grupos de protección hidroxil y amino incluyen, por ejemplo, hidrólisis ácida, base, metal o enzimáticamente catalizada, o fotolíticamente para grupos tales como o-nitrobenciloxicarbonil, o con iones de fluoruro para grupos silil.

Ejemplos de grupos de protección para grupos amida incluyen aralcoximetil (por ejemplo benciloximetil y benciloximetil sustituido); alcoximetil (por ejemplo metoximetil y trimetilsililetoximetil); tri alquil/arilosilil (por ejemplo trimetilsilil, t-butildimetilsilil, t-butildifenilsilil); tri alquil/arilosililoximetil (por ejemplo t-butildimetilsililoximetil, t-butildifenilsililoximetil); 4-alcoxifenil (por ejemplo 4-metoxifenil); 2,4-di(alcoxi)fenil (por ejemplo 2,4-dimetoxifenil); 4-alcoxibencil (por ejemplo 4-metoxibencil); 2,4-di(alcoxi)bencil (por ejemplo 2,4-di(metoxi)bencil); y alqu-l-enil (por ejemplo alil, but-l-enil y vinil sustituido por ejemplo 2-fenilvinil).

Los grupos aralcoximetil, pueden introducirse en el grupo amida reaccionando el último grupo con el apropiado aralcoximetil cloruro, y retirado mediante hidrogenación catalítica. Los grupos alcoximetil, tri alquil/arilosilil y tri alquil/sililoximetil pueden introducirse reaccionando la amida con el cloruro apropiado y retirando con ácido; o en el caso de los grupos que contienen silil iones de fluoruro. Los grupos alcoxifenil y alcoxibencil se introducen convenientemente mediante arilación o alquilación con un haluro apropiado y se retiran mediante oxidación con nitrato de amonio cérico. Finalmente los grupos alqu-l-enil pueden introducirse reaccionando la amida con el apropiado aldehído y retirado con ácido.

La invención también proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula (I) como se definió arriba cuyo proceso comprende reaccionar un compuesto de fórmula (II)

(ver fórmula en el original traducido)

donde L, R³ y R⁴ son como se definen en relación con la fórmula (I), R¹ es un grupo R¹ como se define en relación con la fórmula (I) o un precursor de él, y R⁵ es un grupo de protección tal como BOC, con un compuesto de fórmula (III)

(ver fórmula en el original traducido)

donde Y es como se define en relación con la fórmula (I) y R² es un grupo R² como se define en relación con la fórmula (I) o un precursor de él;

107

y posteriormente si se desea o es necesario, llevar a cabo uno o más de los siguientes pasos:

- a) retirar los grupos de protección R^5 ;
- b) convertir cualesquiera grupos precursores R^1 y R^2 a grupos R^1 y R^2 ; y
- c) cambiar dichos grupos a grupos diferentes R^1 , R^2 .

La reacción entre los compuestos de fórmula (II) y (III) se efectúa adecuadamente en un solvente orgánico tal como diclorometano en presencia de una base tal como N-metilmorfolina y EDC, y opcionalmente en presencia de un catalizador nucleofílico tal como 1-hidroxibenzotriazol. Se emplean moderadas temperaturas por ejemplo de desde 0 a 50°C, convenientemente temperatura ambiente.

Los grupos precursores R^1 y R^2 pueden incluir grupos de protección tales como ésteres, los cuales no son farmacéuticamente aceptables. Estos pueden convertirse en hidrógeno u otros grupos de prodrogas utilizando métodos convencionales como se ilustra abajo.

El retiro de grupos de protección R^5 puede llevarse a cabo utilizando métodos convencionales tales como reacción con TFA y/o trietilsilano.

Los compuestos de fórmula (II) se preparan adecuadamente mediante desprotección de un compuesto de fórmula (IV)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^1 , R^3 , R^4 , R^5 y L son tal como se definió en relación con la fórmula (II) y R^6 es un grupo de protección, en particular un grupo alquil tal como metil. La desprotección se efectúa adecuadamente utilizando una base fuerte tal como un hidróxido de metal alcalino, en particular hidróxido de sodio. La reacción se efectúa adecuadamente en un solvente tal como alcohol acuoso y en particular metanol acuoso, a elevadas temperaturas, convenientemente a la temperatura de reflujo del solvente.

Los compuestos de fórmula (IV) donde L es $-\text{CH}_2\text{NH}-$ pueden prepararse acoplando un compuesto de fórmula (V)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 , R^4 y R^6 son como se definieron arriba; con un aldehído de la fórmula (VI)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^1 y R^5 son como se definieron arriba.

Adecuadas condiciones de acoplamiento incluyen el uso de un agente de reducción (por ejemplo borano.piridina con ácido acético, NaCNBH_3 , BH_3 , hidrógeno más catalizador, LiHBEt_3 , di-isobutil-

aluminiohídrido, hídrido litio aluminio, borohídrido de sodio) en presencia de adecuado solvente, por ejemplo metanol o etanol & ácido acético.

Los aldehidos de la fórmula (VI) pueden prepararse mediante reducción de los compuestos de la fórmula (VII)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^1 y R^5 son como se definieron arriba y R^6 es alquil tal como metil y R^7 es alcoxi tal como metoxi.

Agentes de reducción adecuadamente poderosos tales como hídrido de litio aluminio o DIBAL se emplean. La reacción se lleva a cabo en un solvente tal como tetrahidrofurano a bajas temperaturas, por ejemplo desde -50 a 0°C , en particular a alrededor de -40°C .

Los compuestos de la fórmula (VII) se preparan adecuadamente reaccionando un compuesto de fórmula (VIII)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^8 es un grupo libre tal como un grupo metanosulfoniloxi, el cual es un compuesto de fórmula (IX)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^1 es como se definió arriba y en particular es un grupo trifenilmetil o tritil. Las condiciones de la reacción serán evidentes para la persona experta condiciones, pero en general, la reacción se efectúa en un solvente orgánico tal como etanol a moderadas temperaturas, por ejemplo de desde 0 a 60°C y preferiblemente a alrededor de 40°C .

Los compuestos de la fórmula (VIII) pueden prepararse reaccionando los compuestos de fórmula (X)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^5 , R^6 y R^7 son tal como se definieron arriba, con un compuesto de fórmula (XI)



donde R^8 es tal como se definió arriba y Z es un grupo libre tal como halógeno, en particular cloro. La reacción se efectúa adecuadamente en un solvente orgánico tal como diclorometano en presencia de una base débil tal como trietilamina. Moderadas a bajas temperaturas, por ejemplo, desde 0 a 30°C se emplean adecuadamente.

Los compuestos de la fórmula (X) se preparan adecuadamente reaccionando un compuesto de la fórmula (XII)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^5 es como se definió arriba, con un compuesto de fórmula (XIII)

donde R^6 y R^7 son tal como se definieron arriba. Un ejemplo particular de un compuesto de la fórmula (XIII) es N,O-dimetilhidroxilamina. La reacción se efectúa adecuadamente en presencia de una base (tal como N-metilmorfolina con EDCI) y en un solvente orgánico tal como diclorometano.

Los compuestos de la fórmula (XII) pueden prepararse mediante la N-protección de 1 correspondiente derivado hidroxil prolinea utilizando métodos conocidos.

Los compuestos de la fórmula (V) se preparan adecuadamente mediante hidrogenación de un compuesto de la fórmula (XIV)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 , R^4 y R^6 son como se definieron arriba. la hidrogenación se efectúa adecuadamente en presencia de un catalizador tal como un catalizador de paladio.

Los compuestos de la fórmula (XIV) se preparan adecuadamente reaccionando un compuesto de la fórmula (XV)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^6 es como se definió arriba y Z' es un grupo libre tal como halógeno tal como bromo o cloro, preferiblemente cloro, con un compuesto de la fórmula (XVI)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 y R^4 son como se definieron arriba. la reacción se efectúa adecuadamente en presencia de una base tal como tributilamina, preferiblemente bromuro tetrabutilamonio carbonato de sodio, y un catalizador tal como un catalizador de paladio tal como. bis-(trifenil-fosfina)cloruro de paladio(II) en un solvente adecuado, preferiblemente dimetilacetamida.

Los compuestos de la fórmula (IV) donde L representa $-\text{CH}_2\text{O}-$ pueden prepararse reaccionando un compuesto de fórmula (XVII)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 , R^4 y R^6 son como se definieron arriba, con un compuesto de fórmula (XVIII)

(ver fórmula en el original traducido)

donde $R^{1'}$ y R^5 son como se definieron arriba. La reacción se efectúa adecuadamente bajo condiciones similares a aquellas descritas arriba para la reacción entre los compuestos de las fórmulas (V) y (VI).

Los compuestos de la fórmula (XVIII) se preparan adecuadamente mediante la reducción de un compuesto de fórmula (VI), por ejemplo utilizando un agente de reducción tal como hidruro de litio aluminio. La

110

reducción se lleva a cabo bajo condiciones convencionales en un solvente tal como tetrahidrofurano.

Los compuestos de la fórmula (XVII) pueden prepararse mediante la protección del correspondiente ácido carboxílico, por ejemplo esterificando el ácido utilizando un alcohol, en particular un alcohol alquílico tal como metanol. La reacción se efectúa adecuadamente en presencia de cloruro sulfurilo o similar, a elevadas temperaturas, convenientemente a la temperatura de reflujo del solvente.

El mismo ácido puede prepararse mediante la desprotección de un compuesto de la fórmula (XIX)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 y R^4 son como se definieron arriba y R^{10} y R^{11} son grupos de protección tales como alquílico, y en particular grupos metil. Adecuadas condiciones de desprotección incluyen el calentamiento del compuesto con un reactivo adecuado tal como piridina hidrocloreto a altas temperaturas tales como, por ejemplo desde 200 a 250°C, y preferiblemente a alrededor 220°C.

Los compuestos de la fórmula (XIX) se obtienen mediante hidrogenación de un compuesto de la fórmula (XX)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 , R^4 , R^{10} y R^{11} son como describieron arriba. Adecuadas condiciones de hidrogenación incluyen aquellas descritas arriba para la hidrogenación del compuesto de la fórmula (XIV).

Los compuestos de la fórmula (XX) pueden prepararse reaccionando un compuesto de la fórmula (XXI)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^{10} y R^{11} son como se definieron arriba y Z'' es un grupo libre tal como halógeno y en particular bromo, con un compuesto de la fórmula (XVI) como se definió arriba utilizando condiciones similares a aquellas descritas arriba para la reacción entre los compuestos de fórmula (XV) y (XVI).

Los compuestos de fórmula (IV) donde L es $-\text{CH}=\text{CH}-$ se preparan adecuadamente reaccionando un compuesto de la fórmula (VI) como se definió arriba con un compuesto de fórmula (XXII)

(ver fórmula en el original traducido)

donde R^3 , R^4 y R^6 son como se definieron arriba y R^{12} es un ion fosfato tal como un grupo dietilfosfato, o trifenilfosfina. La reacción es una reacción de Wittig y se lleva a cabo adecuadamente bajo condiciones convencionales. Adecuadas condiciones de reacción incluyen el uso de

una base (por ejemplo carbonato de potasio, hidruro de metal, alcóxido de metal) en presencia de un solvente orgánico (por ejemplo TBF, tolueno, DMSO) opcionalmente en presencia de un solvente acuoso (sistema de 2-fases) y opcionalmente en presencia de un agente de complejo catalizador el cual solubiliza los iones de metal alcalino en solventes no polares tales como 1,4,7,10,13-pentaoxaciclopentadecano (también llamado 15-Crown-5) o 1,4,7,10,13,16-hexaoxaciclooctadecano (también llamado 18-Crown-6).

Los compuestos de la fórmula (XXII) se preparan adecuadamente mediante rutas tales como aquellas descritas en PCT/GB98/000230, y en particular en el Ejemplo 19 de esa solicitud. Los detalles de la preparación se resumen adicionalmente en el Esquema 3 posteriormente.

Si es necesario o se requiere, los grupos R^1 y R^2 pueden cambiarse por diferentes de dichos grupos después de cualquiera de los métodos de preparación de arriba utilizando química convencional y ejemplos de esto se proporcionan posteriormente.

La actividad biológica se probó como sigue. Transferasa proteína farnesil (FPT) se purificó parcialmente a partir de placenta humana mediante fraccionamiento de sulfato de amonio seguido por una cromatografía de intercambio de aniones Q-Sepharose® (Pharmacia, Inc) esencialmente como se describió por Ray y Lopez-Behnonte (Ray K P y Lopez-Behnonte J (1992) Biochemical Society Transactions 20 494-497). El sustrato para FPT fue Kras (secuencia CVIMC-terminal). El cADN para variante oncogénica val 12 de humana c-Ki-ras-2 4B se obtuvo del plásmido pSW11-1 (ATCC). Este se subclonó entonces en el poli enlazante de un adecuado vector de expresión por ejemplo pIC147. El Kras se obtuvo después de la expresión en la cadena E. coli, BL21. La expresión y purificación de c-Ki-ras-2 4B y la variante val 12 en E. coli se ha reportado también por Lowe y otros (Lowe P N et al. J. Biol. Chem. (1991) 266 1672-1678).

Las incubaciones con enzima contenían 300nM de pirofosfato de farnesil tritiado (DuPont/New England Nuclear), 120nM ras-CVIM, 50mM Tris HCl pH 8.0, 5mM $MgCl_2$, 10 μ M $ZnCl_2$, 5mM ditioteitol y compuestos se agregaron a apropiadas concentraciones en DMSO (3% de concentración final en prueba y vehículo de control). Las incubaciones fueron por 20 minutos a 37°C y se detuvieron con etanol ácido como se describe por Pompliano y otros (Pompliano D L y otros (1992) 31 3800-3807). La proteína precipitada se recogió entonces en matrices de filtro de fibra de vidrio (B) utilizando un recolector de células Tomtec® y se

412

midio la etiqueta triturada en un contador Wallac® 1204 Betaplate de cintilleo.

Aunque las propiedades farmacológicas de los compuestos de la Fórmula I varían con el cambio estructural como se espera, en general los compuestos de la Fórmula I poseen un IC_{50} en la anterior prueba en el rango, por ejemplo, de 0,01 a 200 μ M. Consecuentemente, a modo de ejemplo, el compuesto 5{[(2S,4S)-4-acetylsulfanyl-1-(4-nitro-benciloxi carbonil)-pirrolidina-2-carbonil]-amina}-3(N-metil-metoxicarbamoil) éster alil ácido benzoico (ver Ejemplo 7) tiene un IC_{50} de aproximadamente 0,5 μ M. No se observó toxicidad fisiológicamente inaceptable a la dosis efectiva para los compuestos probados de la presente invención.

La invención se ilustrará ahora en los siguientes Ejemplos no limitantes donde, a menos que se establezca de otra forma:-

(i) las evaporaciones se llevaron a cabo mediante evaporación rotativa en vacío y procedimientos de trabajo se llevaron a cabo después del retiro de los sólidos residuales mediante filtración;

(ii) las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, que está en el rango de 18 a 25°C y bajo una atmósfera de un gas inerte tal como argón;

(iii) cromatografía de columna (mediante el procedimiento de destello) y cromatografía líquida de presión media (MPLC) se llevaron a cabo sobre sílice Merck Kieselgel (Art. 9385) o Merck Lichroprep RP-18 (Axt. 9303) sílice de fase inversa obtenida en E. Merck, Darmstadt, Alemania;

(iv) los obtenidos se presentan únicamente a modo de ilustración y no son necesariamente los máximos obtenibles;

(v) los productos finales de la Fórmula I tienen satisfactori microanálisis y sus estructuras se confirmaron mediante técnicas de resonancia nuclear magnética (NMR) y espectro de masa; los valores de levantamiento químico se midieron en la escala delta; las siguientes abreviaciones se han utilizado: s, singlete; d, doblete; t o tr, triplete; m, multiplete; br, amplio;

(vi) los intermediarios no se caracterizaron generalmente completamente y la pureza se obtuvo mediante análisis cromatográfico de capa delgada, infrarrojo (IR) o NMR;

(vii) los puntos de fusión no están corregidos y se determinaron utilizando un aparato de punto de fusión automático Mettler SP62 o un aparato de baño de aceite; los puntos de fusión para los productos finales de la Fórmula I se determinaron después de cristalización a partir de un solvente orgánico convencional tal como etanol, metanol, acetona, éter o hexano, solos o en mezcla; y

(viii) las siguientes abreviaciones se han utilizado a través de toda la solicitud:-

BOC	<u>tert</u> -butoxicarbonil
DCCI	1,3-diciclohexilcarbodiimida
DMA	<u>N,N</u> -dimetilacetamida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	<u>N,N</u> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDC	1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida
EEDQ	2-ethoxi-1-ethoxycarbonil-1,2-dihidroquinolina
HOBT	1-hidroxibenzotriazolo
NMM	<u>N</u> -metilmorfolina
NMM-O	4-metilmorfolina- <u>N</u> -óxido
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TMSI	trimetilsililioduro
TPAP	perrutenato tetrapropilamonio

Ejemplo 1

Preparación del Compuesto No. 6 en la Tabla I

El procedimiento seguido se resume en el Esquema 1 posteriormente. En particular, una mezcla del compuesto (xv) donde R era N-metilpiperidina (4,8 g), trietilsilano (10 ml) y TFA(200 ml.) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora bajo atmósfera de nitrógeno. El TFA se retiró por evaporación y el residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml). HCl en éter (1 M., 100 ml) se agregó seguido por más éter (100 ml). El sólido blanco resultante se aisló mediante centrifugado, adicional lavado con éter y re-centrifugado (4 veces en total). El sólido se secó bajo lato vacío para dar el Compuesto 6 en la Tabla I como la sal de hidrocioruro (4,5 g).

Compuesto 6

¹H NMR datos (DMSO d₆) δ 1.14 (6H, m), 1.7 (1H, m), 1.8-2.11 (7H, m), 2.02 (3H, s), 2.29-3.0 (10H, m), 2.66 (3H, d), 3.16 (1H, m), 3.2-3.52 (3H, m), 3.62 (1H, m), 3.78 (1H, m), 4.0 (1H, m), 4.46 (1H, q), 4.9 (1H, m), 6.60 (2H, m), 6.9-7.10 (3H, m), 7.19 (2H, m), 8.59 (1H, d).

MS (ES+) m/z 673.7 (M+H)⁺

El material de partida, Compuesto (xv) en el Esquema 1, donde R era N-metilpiperidina se preparó como sigue:

El compuesto (xii) es un compuesto conocido y se preparó como se describe en el Ejemplo 6 de PCT/GB99/00369. Una mezcla del Compuesto (xii) (50 g), L-metionins isopropil éster hidrocloreto (19,0 g), DMAP (42,6 g) y EDC (20,0 g) en diclorometano (500 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La solución se lavó con ácido cítrico acuoso (1M.), salmuera y se secó. Se diluyó entonces con la misma cantidad de isohexano y se aplicó directamente a una columna de destello de sílice levigando con etil acetato/isohexano (20:80,30:70) para dar el Compuesto (xiii) en el Esquema 1 (58,6 g) como una espuma blanca sólida.

Compuesto (xiii):

^1H NMR datos (CDCl_3) δ 1.26 (6H, m), 1.38 (9H, s), 1.41 (1H, m), 1.58 (1H, m), 2.02 (1H, m), 2.05 (3H, s), 2.15-2.4 (2H, m), 2.47-2.7 (2H, m), 2.7-2.98 (6H, m), 3.06-3.34 (2H, m), 3.9 (1H, m), 4.79 (2H, m), 5.08 (1H, m), 6.34 (1H, d), 6.38 (2H, m), 6.91 (3H, m), 7.09 (2H, m), 7.18-7.35 (9H, m), 7.43 (6H, m).

MS (ES+) m/z 890.5 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

TFA (80 ml) se agregaron a una solución agitada rápidamente del Compuesto (xiii) (58,6 g) y trietilsilano (80 ml) en diclorometano (4 l) bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución se agitó entonces a temperatura ambiente durante 4,5 horas, se basificó con solución saturada de bicarbonato de sodio y la capa de diclorometano se separó. Después de secado y evaporación a un menor volumen (500 ml) se aplicó directamente a una columna de destello de sílice y se levigó con etil acetato/isohexano (30:70,50:50) para dar el Compuesto (xiv) en el Esquema 1 (35,5 g) como un sólido blanco.

Compuesto (xiv):

^1H NMR dato (CDCl_3) δ 1.25 (6H, m), 1.46 (9H, s), 1.5 (1H, m), 1.68 (1H, m), 1.70 (1H, d), 2.00 (1H, m), 2.08 (3H, s), 2.21 (1H, m), 2.56 (2H, m), 2.75-2.97 (4H, m), 3.05 (1H, m), 3.26 (2H, m), 3.4 (1H, m), 3.85-4.3 (2H, m), 4.8 (2H, q), 5.05 (1H, m), 6.35 (1H, d), 6.6 (2H, m), 6.92 (3H, m), 7.1 (2H, m).

MS (ES+) m/z 648.7 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

Una mezcla del Compuesto (xiv) (4,5 g), N-metilpiperidina-4-ácido carboxílico (1,5 g), N-metilpiperidina (3,5 g), EDC (1,6 g) y HOBT (0,94 g) en diclorometano (100 ml.) se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas. Se aplicó entonces directamente a una columna de destello de sílice y se levigó con etil acetato/isohexano (1:1), etil acetato,

115

metanol/etil acetato (10:90,20:80) para dar el Compuesto xv en el Esquema 1 donde R es N-metilpiperidina (4,8 g) como una espuma blanca.

^1H NMR datos (DMSO d_6) δ 1.15 (6H, m), 1.4 (9H, s), 1.69 (1H, m), 1.7-2.0 (7H, m), 2.01 (3H, s), 2.11 (3H, s), 2.4-2.6 (4H, m), 2.63-2.82 (6H, m), 3.04 (2H, m), 3.28 (1H, m), 3.42 (1H, m), 3.7-4.0 (3H, m), 4.44 (1H, m), 4.9 (1H, m), 5.82 (1H, t), 6.6 (2H, m), 6.9 (1H, m), 7.03 (2H, t), 7.38 (2H, m), 8.55 (1H, d).

MS (ES+) m/z 773.6 (M+H) $^+$

Ejemplo 2

Utilizando un método análogo al descrito en el Ejemplo 1, los Compuestos 4 y 3 en la Tabla 1 se prepararon a partir del Compuesto (xiv) en el Esquema 1 utilizando los apropiados intermediarios.

Compuesto (xv) en el Esquema 1 donde R es fenil:

^1H NMR datos (CDCl_3) δ 1.28 (6H, m), 1.50 (9H, s), 1.50 (1H, m), 1.90 (1H, m), 2.05 (1H, m), 2.07 (3H, s), 2.23 (1H, m), 2.57 (2H, m), 2.69 (1H, m), 2.82 (2H, m), 2.90 (2H, m), 3.27 (2H, m), 3.46 (1H, m), 4.1 (1H, m), 4.23 (1H, m), 4.80 (2H, m), 5.07 (1H, m), 6.40 (1H, d), 6.68 (2H, m), 6.93 (3H, m), 7.1 (2H, m), 7.46 (2H, m), 7.59 (1H, m), 7.94 (2H, d).

MS (ES+) m/z 752.71 (M+H) $^+$

Compuesto 4 en la Tabla 1:

^1H NMR datos (DMSO d_6) δ 1.16 (7H, m), 1.82 (1H, m), 1.98 (2H, m), 2.01 (3H, s), 3.4-3.9 (6H, m), 3.22 (1H, m), 3.42 (2H, m), 3.80 (2H, m), 4.20 (1H, m), 4.47 (1H, q), 4.90 (1H, m), 6.62 (2H, m), 6.93-7.10 (3H, m), 7.19 (2H, m), 7.57 (2H, t), 7.70 (1H, t), 7.89 (2H, d), 8.60 (1H, d).

MS (ES+) m/z 652 (M+H) $^+$

Compuesto (xv) en el Esquema 1 donde R es 3-piridil:

^1H NMR datos (CDCl_3) δ 1.27 (6H, m), 1.49 (9H, s), 1.50 (1H, m), 1.92 (1H, m), 2.04 (1H, m), 2.10 (3H, s), 2.23 (1H, m), 2.56 (2H, m), 2.70 (1H, m), 2.83 (2H, m), 2.92 (2H, m), 3.28 (2H, m), 3.45 (1H, m), 4.14 (1H, m), 4.25 (1H, m), 4.80 (2H, m), 5.08 (1H, m), 6.40 (1H, d), 6.65 (2H, m), 6.93 (3H, m), 7.10 (2H, m), 7.42 (1H, m), 8.18 (1H, m), 8.80 (1H, M), 9.13 (1H, m).

MS (ES+) m/z 753.71 (M+H) $^+$

Compuesto 8 en la Tabla 1:

116

¹H NMR datos (DMSO-d₆) δ 1.15 (6H, m), 1.20 (1H, m), 1.86 (1H, m), 1.97 (2H, m), 2.02 (3H, s), 2.40-2.92 (5H, m), 3.29 (1H, m), 3.37-3.60 (2H, m), 3.68-3.94 (2H, m), 4.28 (1H, m), 4.48 (1H, m), 4.89 (1H, m), 6.67 (2H, m), 7.00 (4H, m), 7.19 (2H, t), 7.68 (1H, m), 8.33 (1H, m), 8.61 (1H, d), 8.88 (1H, m), 9.06 (1H, m).

MS (ES+) m/z 653.56 (M+H)⁺

Ejemplo 3

Preparación del Compuesto 7 en la Tabla 1

El compuesto 7 en la Tabla 1 se sintetizó a partir del Compuesto (xxviii) en el Esquema 2 utilizando un método análogo al descrito en el Ejemplo 1 para la conversión del Compuesto (xv) en el Esquema 1 al Compuesto 6.

Compuesto 7 en la Tabla 1

¹H NMR datos (DMSO-D₆ + CD₃COOD) δ 1.1-1.25 (6H, m), 1.8-2.05 (1H, m), 2.05-2.35 (2H, m), 2.6-3.05 (5H, m), 2.95 (3H, s), 3.05-3.4 (3H, m), 3.82 (1H, dd), 4.0-4.2 (1H, m), 4.2-4.4 (3H, m), 4.4-4.6 (1H, m), 4.85-5.0 (1H, m), 6.9-7.1 (4H, m), 7.1-7.3 (3H, m), 7.65 (1H, dd), 8.3 (1H, dd), 8.87 (1H, dd), 9.07 (1H, d).

MS (ES+) m/z 686.5 (M+H)⁺

Análisis Calculado para C₃₄H₄₀N₃S₂O₇F, 2HCl, 2H₂O

C, 51.4; H, 5.8; N, 5.3; S, 8.0; Cl, 8.9

Encontrado

C, 51.2; H, 5.39; N, 5.2; S, 7.84; Cl, 9.2

El material de partida, Compuesto (xxviii) se sintetizó a partir del Compuesto (xxv) en el Esquema 2 en una forma similar a la descrita en el Ejemplo 1 para la preparación del Compuesto (xv) en el Esquema 1 utilizando los apropiados intermediarios. El compuesto (xxv) se obtuvo utilizando el método descrito en el Ejemplo 12 de PCT/GB99/00369, y resumido en el Esquema 2.

Compuesto (xxvi) en el Esquema 2:

¹H NMR datos (CDCl₃) δ 1.2-1.35 (6H, m), 1.35 (9H, s), 1.8-2.05 (1H, m), 2.15-2.4 (1H, m), 2.45-3.3 (10H, m), 2.85 (3H, s), 3.7-4.3 (4H, m), 4.7-4.85 (1H, m), 5.0-5.2 (1H, m), 6.5 (1H, d), 6.8-7.0 (4H, m), 7.0-7.15 (3H, m), 7.15-7.4 (9H, m), 7.4-7.6 (6H, m).

MS (ES+) m/z 945.1 (M+Na)⁺

M7

Compuesto (xxvii) en el Esquema 2:

¹H NMR datos (CDCl₃) δ 1.2-1.35 (6H, m), 1.45 (9H, m), 1.75 (1H, d), 1.9-2.1 (1H, m), 2.2-2.4 (1H, m), 2.45-2.7 (2H, m), 2.8-3.4 (8H, m), 2.85 (3H, s), 3.8-4.4 (4H, m), 4.7-4.85 (1H, m), 5.0-5.2 (1H, m), 6.55 (1H, d), 6.8-7.2 (7H, m).

MS (ES+) m/z 681.2 (M+H)⁺

MS (ES-) m/z 679.2 (M-H)⁻

Compuesto (xxviii) en el Esquema 2:

¹H NMR datos (CDCl₃) δ 1.2-1.35 (6H, m), 1.45 (9H, s), 2.1-2.4 (2H, m), 2.45-2.65 (1H, m), 2.65-2.8 (1H, m), 2.8-3.45 (8H, m), 2.85 (3H, s), 4.0-4.4 (4H, m), 4.7-4.85 (1H, m), 5.05.2 (1H, m), 6.55 (1H, d), 6.8-7.2 (7H, m), 7.42 (1H, dd), 8.18 (1H, d), 8.8 (1H, d), 9.15 (1 H, s).

MS (ES+) m/z 786.7 (M+H)⁺

MS (ES-) m/z 784.6 (M-H)⁻

Ejemplo 4**Preparación del Compuesto 9 en la Tabla 1**

El compuesto 9 en la Tabla 1 se sintetizó a partir del Compuesto (xxxxi) en el Esquema 3 utilizando un método análogo al descrito en el Ejemplo 1 para la conversión del Compuesto (xv) en el Esquema 1 al Compuesto 6 en la Tabla 1.

Compuesto 9 en la Tabla 1

¹H NMR datos (DMSO d₆) δ 1.13 - 1.22 (6H, m), 1.92 - 2.06 (6H, m), 2.39 - 2.46 (1H, M), 2.54 - 2.62 (2H, m), 2.66 - 2.83 (3H, m), 2.92 - 3.00 (2H, m), 3.31 (1H, m), 3.81 (1H, m), 4.30- 4.39 (1H, m), 4.47 - 4.57 (1H, m), 4.90 (1H, m), 6.37 (1H, dd), 6.81 (1H, d), 7.04 (2H, t), 7.15 - 7.25 (3H, m), 7.39 - 7.46 (2H, m), 7.61 (1H, dd), 8.27 (1H, m), 8.79 (1H, d), 8.87 (1H, dd), 9.05 (1H, d).

MS (ES+) m/z 650.1 (M+H)⁺

El material de partida (Compuesto (xxxxi) en el Esquema 3) se sintetizó a partir del Compuesto (xxxv) como se muestra en el Esquema 3 utilizando el siguiente método. El compuesto xxxv mismo se obtuvo como se describe en el Ejemplo 21 de PCT/GB98/00230 y se resume en el Esquema 3.

El compuesto (xxxv) en el Esquema 3 (20 g) se disolvió en trietil fosfato (100 ml) y se calentó a 160 °C bajo una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas. La solución se evaporó hasta sequedad y el residuo se

118

disolvió en diclorometano y aplicó directamente a una columna de destello de sílice y se levigó con etil acetato/isohexano (50:50, 100:0) para dar el Compuesto (xxxvi) como un sólido incoloro cristalino (19,4 g).

Compuesto (xxxvi) en el Esquema 3:

^1H NMR datos (DMSO d_6) δ : 1.15 (6H, t), 2.79 (2H, t), 3.10 (2H, t), 3.24 (2H, d), 3.81 (3H, s), 3.88 - 3.98 (4H, m), 7.02 - 7.10 (2H, m), 7.16 - 7.27 (3H, m), 7.35 - 7.40 (1H, m), 7.72 (1H, s).

MS (ES+) m/z 409.3 (M+H) $^+$

El compuesto (xxxvi) en el Esquema 3 (17,5 g) se disolvió en tetrahidrofurano (500 ml) y se enfrió a -50°C bajo una atmósfera de nitrógeno. *n*-Butil litio (1,6 M) (26,9 ml) se agregó lentamente a -40°C seguido por el Compuesto (x) (18,5 g) como una solución en tetrahidrofurano (100 ml). La mezcla se dejó tibia entonces a 0°C . Se agregó entonces una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (300 ml) y los orgánicos se separaron sobre sulfato de magnesio. La solución se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en diclorometano y purificó mediante cromatografía de columna de destello levigando con etil acetato/isohexano (20:80,30:70) para dar el Compuesto (xxxvii) en el Esquema 3 como una espuma sólida incolora (10,4 g).

Compuesto (xxxvii) en el Esquema 3:

^1H NMR datos (DMSO d_6) δ : 1.16 - 1.30 (10H, m), 1.52 - 1.65 (1H, m), 2.68 - 2.80 (5H, m), 3.04 - 3.14 (2H, m), 3.80 (3H, s), 4.04 (1H, m), 6.12 (1H, dd), 6.34 (1H, d), 7.06 (2H, t), 7.15 - 7.40 (18H, m), 7.48 (1H, dd), 7.74 (1H, d).

MS (ES+) m/z 728.8 (M+H) $^+$

El Compuesto (xxxvii) en el Esquema 3 se convirtió al Compuesto (xxxxi) en el Esquema 3 utilizando un método análogo al descrito en el Ejemplo 1 para la preparación del Compuesto (xv) en el Esquema 1 utilizando los apropiados intermediarios.

Compuesto (xxxviii) en el Esquema 3:

^1H NMR datos (DMSO d_6) δ : 1.14 - 1.35 (10H, m), 1.53 - 1.66 (1H, m), 2.68 - 2.81 (5H, m), 3.10 (2H, t), 4.04 (1H, m), 6.10 (1H, dd), 6.34 (1H, d), 7.05 (2H, t), 7.14 - 7.39 (18H, m), 7.43 (1H, d), 7.76 (1H, s), 12.90 (1H, br s).

MS (ES-) m/z 712.6 (M-H) $^-$

Compuesto (xxxx) en el Esquema 3:**MS (ES+) m/z 645.6 (M+H)⁺****Compuesto (xxxxi):****MS (ES+) m/z 750.6 (M+H)⁺****Ejemplo 5****Composiciones farmacéuticas**

Lo siguiente ilustra formas representativas de dosificación farmacéutica de la invención como se definió aquí (el ingrediente activo se denomina "Compuesto X"), para uso terapéutico o profiláctico en humanos:

(a)	Tableta I	<u>mg/tableta</u>
	Compuesto X	100
	Lactosa Ph.Eur	182,75
	Croscarmelosa de sodio	12,0
	Pasta de almidón de maíz (5% w/v pasta)	2,25
	Estearato de magnesio	3,0
(b)	Tableta II	<u>mg/tableta</u>
	Compuesto X	50
	Lactosa Ph.Eur	223,75
	Croscarmelosa de sodio	6,0
	Almidón de maíz	15,0
	Polivinilpirrolidona (5% w/v pasta)	2,25
	Estearato de magnesio	3,0
(c)	Tableta III	<u>mg/tableta</u>
	Compuesto X	1,0
	Lactosa Ph.Eur	93,25
	Croscarmelosa de sodio	4,0
	Pasta de almidón de maíz (5% w/v pasta)	0,75
	Estearato de magnesio	1,0
(d)	Cápsula	<u>mg/cápsula</u>
	Compuesto X	10
	Lactosa Ph.Eur	488,5
	Magnesio	1,5
(e)	Inyección I	<u>(50 mg/ml)</u>
	Compuesto X	5,0% v/v
	Solución 1M de hidróxido de sodio	15,0% v/v
	0,1M Ácido clorhídrico (para ajustar pH a 7,6)	

120

	Polietilenglicol 400	4,5% v/v
	Agua para inyección a 100%	
(f)	Inyección II	<u>(10 mg/ml)</u>
	Compuesto X	1,0% p/v
	Fosfato de sodio BP	3,6% p/v
	Solución 0,1M de hidróxido de sodio	15,0% v/v
	Agua para inyección a 100%	
(g)	Inyección III	<u>(1 mg/ml, amortiguada a pH 6)</u>
	Compuesto X	0,1 % p/v
	Fosfato de sodio BP	2,26% p/v
	Ácido cítrico	0,38% w/v
	Polietilenglicol 400	3,5% w/v
	Agua para inyección a 100%	
(h)	Aerosol I	<u>mg/ml</u>
	Compuesto X	10,0
	Trioleato de sorbitan	13,5
	Triclorofluorometano	910,0
	Diclorodifluorometano	490,0
(i)	Aerosol II	<u>mg/ml</u>
	Compuesto X	0,2
	Trioleato de sorbitan	0,27
	Triclorofluorometano	70,0
	Diclorodifluorometano	280,0
	Diclorotetrafluoroetano	1 094,0
(j)	Aerosol III	<u>mg/ml</u>
	Compuesto X	2,5
	Trioleato de sorbitan	3,38
	Triclorofluorometano	67,5
	Diclorodifluorometano	1 086,0
	Diclorotetrafluoroetano	191,6
(k)	Aerosol IV	<u>mg/ml</u>
	Compuesto X	2,5
	Lecitina de soya	2,7
	Triclorofluorometano	67,5
	Diclorodifluorometano	1 086,0
	Diclorotetrafluoroetano	191,6
(l)	Ungtento	<u>ml</u>

121
L

Compuesto X	40 mg
Etanol	300 µl
Agua	300 µl
1-Dodecilazacicloheptan-2-ona	50 µl
Propilenglicol	a 1 ml

Nota

Las anteriores formulaciones pueden obtenerse mediante procedimientos convencionales bien conocidos en el arte farmacéutico. Las tabletas (a)-(c) pueden recubrirse entéricamente mediante medios convencionales, por ejemplo para proporcionar un recubrimiento de ftalato acetato de celulosa. Las formulaciones en aerosol (h)-(k) pueden utilizarse en conjunción con dispensadores estándares, de dosis medida en aerosol, y los agentes de suspensión trioleato de sorbitan y lecitina de soya pueden remplazarse por un agente de suspensión alternativo tal como monooleato de sorbitan, sesquioleato de sorbitan, polisorbato 80, poliglicerol oleato ácido oleico.

ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA DEL DOCUMENTO ANEXO
TERMINADA ESTE 10 DE JUNIO, 2001.