



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21 **EXPEDIENTE No**

04-121339

54 **TITULO** FORMULACION FARMACEUTICA DE LIBERACION MODIFICADA

51 **CLASIFICACION INTERNACIONAL** A61K31/397
A61P9/22

71 **SOLICITANTE** ASTRAZENECA AB

DOMICILIO SODERTALJE, SUECIA

74 **APODERADO** JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22 **SANTAFE DE BOGOTA, D C** 01/12/2004

SS

PETITORIO

AS: 95.685



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 04121339 00000000

Folios: 301

Fecha (MM): 2004-12-01 17:26:41

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACT 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

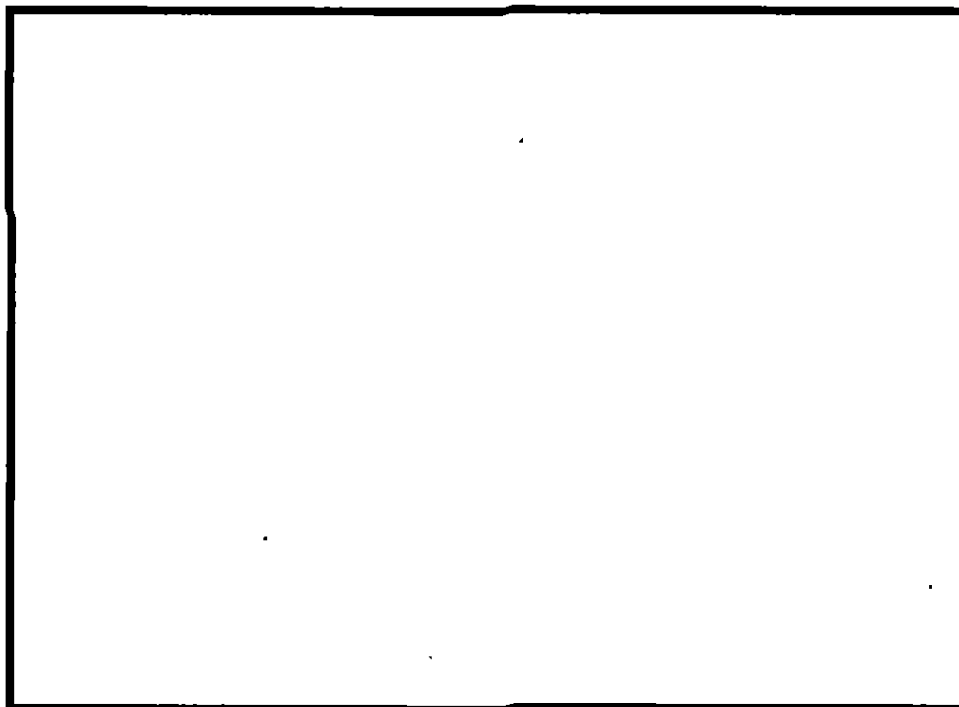
1 SOLICITUD DE:			
☒ Patente de Invención.		☐ Patente de Modelo de Utilidad.	
☐ Capítulo I.		☒ Capítulo II.	
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: ASTRAZENECA AB Dirección: S-151 85 Sodertälje, Suecia Nacionalidad o Domicilio: Suecia Lugar de Constitución: Suecia Teléfono: Fax E-mail:		IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9 Teléfono: 380-2200 Fax 380-2700 E-mail:		IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>80.410.337 TP 57492</u>
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: Anders Magnusson, Mikael Thune Dirección: AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, Suecia (Respectivamente) Nacionalidad o Domicilio: Suecia (Respectivamente)		
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/SE03/00858</u> Fecha <u>27-05-2003</u> Publicación Internacional No. <u>WO 03/101424 A1</u> Fecha <u>11-12-2003</u>			
8 Título (54): FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN MODIFICADA			
7 Clasificación Internacional (51) <u>A61K9/100</u> <u>A61K31/397 ; A61P9/22</u>			
8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>SE</u>	(32) Fecha <u>31-05-2002</u>	(31) Número de Solicitud <u>0201650-0</u>
9 Fecha de pago de la tarifa <u>31-05-2003</u> Fecha <u>31-05-2003</u>			
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.			

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$422.000
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si tuviere el caso. Fotocopia Autenticada Anota
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☒ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otras Tarjetas de Propietarios

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



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

3

NIT : 890176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radiacion : 04121339 00000000 Folios: 301
Fecha (AND): 2004-12-01 17:26:41
Tramite : 611 PCT-PATENT 379 FREE INCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 90,195
FECHA : NOVIEMBRE 19 DE 2004

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	21591365	19/11/2004	8,480,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. CONTABILISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

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

**(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau**



(43) International Publication Date
11 December 2003 (11.12.2003)

(18) International Publication Number
WO 03/101424 A1

PCT

(51) International Patent Classification: A61K 9/00.
9/22, 9/52, 47/36, 31/397, A61P 9/00

SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) International Application Number: PCT/SE03/00858

(22) International Filing Date: 27 May 2003 (27.05.2003)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Date:
0201699-0 31 May 2002 (31.05.2002) SB

(71) Applicant (for all designated States except US): **ASTRAZENECA AB (SE/SE); S-15 85 Södertälje (SE).**

(72) Inventors: and

(75) **Inventors/Applicants (for US only):** MAGNUSSON, Anders [SE/SE]; AstraZeneca R & D Malmö, S-431 83 Malmö (SE). THUNE, Mikael [SE/SE]; AstraZeneca R & D Malmö, S-431 83 Malmö (SE).

(74) Agent: GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY; AstraZeneca AB, S-151 85 Södertälje (SE).

(31) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, ME, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IL, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

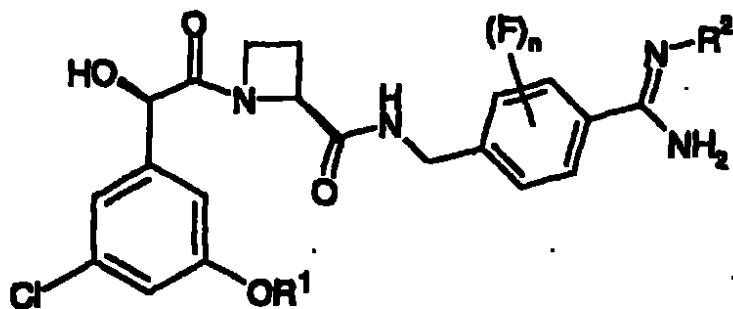
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(i)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- of inventability (Rule 4.17(iv)) for US only

Published:

- with international search report

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

(54) Title: MODIFIED RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION



(57) Abstract: A modified release pharmaceutical composition comprising, as active ingredient, a compound of formula (I), wherein R₁ represents C₇-20 alkyl substituted by one or more fluoro substituents; R₂ represents hydrogen, hydroxy, methoxy or ethoxy; and n represents 0, 1 or 2; or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a pharmaceutically acceptable diluent or carrier; provided that the formulation may only contain

iota-carrageenan and a neutral gelling polymer when the compound of formula (I) is in the form of a salt; such formulations being of use for the treatment of a cardiovascular disorder.

WO 03/101424 A1

85

MODIFIED RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION

This invention relates to novel modified release pharmaceutical formulations that provide for modified delivery of particular pharmaceuticals, to the manufacture of such formulations, and to the use of such a formulation in the treatment or prevention of thrombosis.

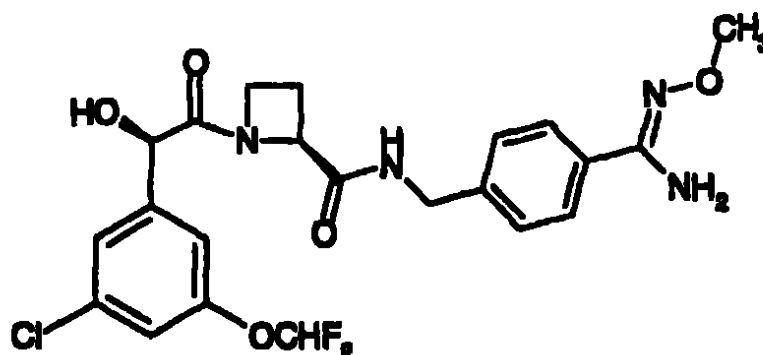
It is often necessary to administer pharmaceutically active compounds frequently throughout the day in order to maintain a desired therapeutic level of active principle in plasma, body tissues and/or the gastrointestinal tract. This is particularly the case where it is intended to deliver the drug orally and to provide a uniform response over an extended period of time.

Over the last thirty or so years, modified release dosage forms have increasingly become a preferred method of delivering certain drugs to patients, particularly via the oral route. Such forms may for example provide for release of drug over an extended period of time, thus reducing the number of required daily doses, and during which time the rate of release may be substantially uniform and/or constant, within a specific part of the gastrointestinal tract, or pulsative.

There are numerous modified release dosage forms known in the art and these have been summarised by *inter alia* De Haan and Lerk in *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 6, 57 (1984); Banker in "Medical Applications of Controlled Release", Vol II, eds. Langer and Wise (1984) Boca Raton, Florida, at pages 1 to 34; Graffner in *Industrial Aspects of Pharmaceuticals*, ed. Sandel, Swedish Pharmaceutical Press (1993) at pages 93 to 104; and Proudfoot "Dosage Regimens: Their Influence on the Concentration-Time Profile of the Drug in the Body" at pages 191 to 211 of "Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design", ed. M. E. Aulton (1988) (Churchill Livingstone).

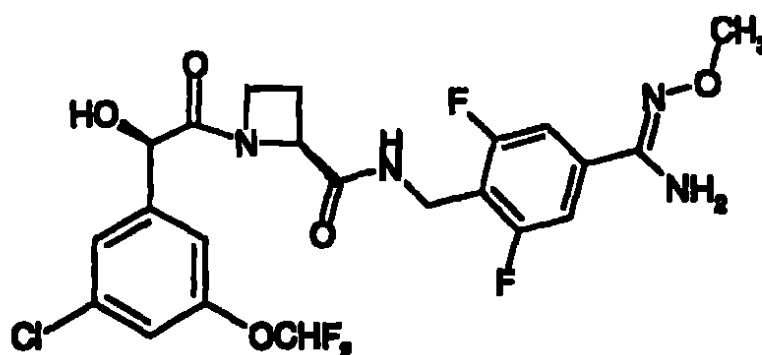
International Patent Application No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, earliest priority date 01 December 2000, filed 30 November 2001, published 06 June 2002) discloses a number of compounds that are, or are metabolised to compounds which are, competitive inhibitors of trypsin-like proteases, such as thrombin. The following three compounds are amongst those that are specifically disclosed:

(a) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$:



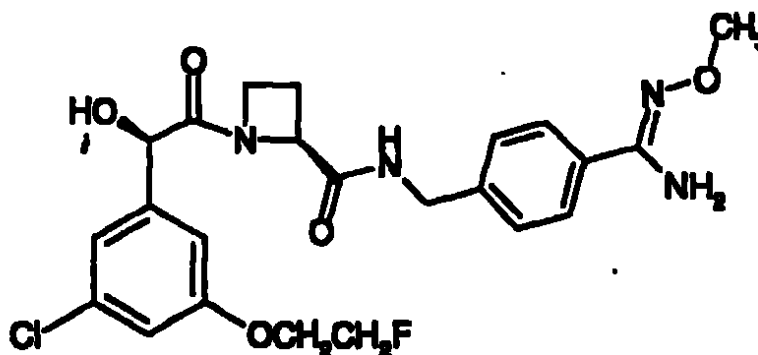
which compound is referred to hereinafter as Compound A;

(b) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe):



5 which compound is referred to hereinafter as Compound B; and

(c) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe):



which compound is referred to hereinafter as Compound C.

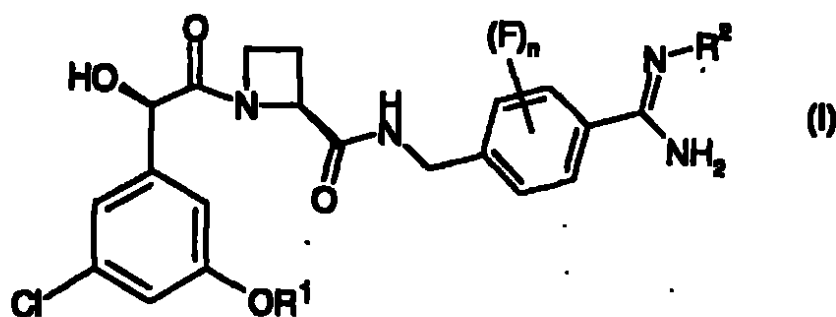
10 The methoxyamidine Compounds A, B and C are metabolised following oral and/or parenteral administration to a mammal and form the corresponding free amidine compounds, which latter compounds have been found to be potent inhibitors of thrombin. Thus:

- Compound A is metabolized to $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}$ (which compound is referred to hereinafter as Compound D) via a prodrug intermediate $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OH)}$ (which compound is referred to hereinafter as Compound G);
- 5 • Compound B is metabolized to $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)}$ (which compound is referred to hereinafter as Compound E) via a prodrug intermediate $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)}$ (which compound is referred to hereinafter as Compound H); and,
- Compound C is metabolized to $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}$ (which compound is referred to hereinafter as Compound F) via a prodrug intermediate $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OH)}$ (which compound is referred to hereinafter as Compound J).

Processes for the synthesis of Compounds A, B, C, D, E, F, G and J are described in Examples 12, 40, 22, 3, 39, 21, 2 and 31 (respectively) of international patent application
 15 No. PCT/SE01/02657. A modified release formulation of these compounds, or their metabolites has yet to be described in the literature.

We have already found that Compounds A and C can be formulated in certain modified release iota-carrageenan formulations, and have now found that the compounds of formula (I) and their salts can be formulated in other modified release pharmaceutical
 20 formulations which are easy to administer, for example by oral administration.

According to a first aspect of the invention, there is provided a modified release pharmaceutical formulation comprising, as active ingredient, a compound of formula (I):



wherein

- 25 R^1 represents C_{1-2} alkyl substituted by one or more fluoro substituents;

R^2 represents hydrogen, hydroxy, methoxy or ethoxy; and

n represents 0, 1 or 2;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a pharmaceutically acceptable diluent or carrier; provided that the formulation may only contain iota-carrageenan and a neutral gelling polymer when the compound of formula (I) is in the form of a salt; which formulations are referred to hereinafter as "the formulations of the invention".

The compounds of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, may be in the form of a solvate, a hydrate, a mixed solvate/hydrate or, preferably, an anhydrate, such as an anhydrate. Solvates may be of one or more organic solvents, such as lower (for example C_{1-4}) alkyl alcohols (for example methanol, ethanol or *iso*-propanol), ketones (such as acetone), esters (such as ethyl acetate) or mixtures thereof.

In one particular aspect of the invention R^1 is CHF_2 or CH_2CH_2F .

The variable n is preferably 0 or 2.

More preferred compounds of formula (I) include those in which n represents 0, or those in which n represents 2, so providing two fluoro atoms located at the 2- and 6-positions (that is the two *ortho*-positions relative to the point of attachment of the benzene ring to the $-NH-CH_2-$ group).

The compound of formula (I) is especially Compound A, Compound B or Compound C.

A neutral gelling polymer is a single, or a mixture of more than one, neutral erodable polymer(s) having gelling properties and having substantially pH-independent solubility.

Preferred salts of the compounds of formula (I) are acid addition salts. Acid addition salts include inorganic acid addition salts, such as those of sulphuric acid, nitric acid, phosphoric acid and hydrohalic acids, such as hydrobromic acid and hydrochloric acid. More preferred acid addition salts include those of organic acids, such as those of dimethylphosphoric acid; saccharinic acid; cyclohexylsulfamic acid; those of carboxylic acids (such as maleic acid, fumaric acid, aspartic acid, succinic acid, malonic acid, acetic acid, benzoic acid, terephthalic acid, hippuric acid, 1-hydroxy-2-naphthoic acid, pantoic acid, hydroxybenzoic acid and the like); those of hydroxy acids (such as salicylic acid,

tartaric acid, citric acid, malic acid (including L-(-)-malic acid and, D,L-malic acid), gluconic acid (including D-gluconic acid), glycolic acid, ascorbic acid, lactic acid and the like); those of amino acids (such as glutamic acid (including D-glutamic, L-glutamic, and D,L-glutamic, acids), arginine (including L-arginine), lysine (including L-lysine and L-lysine hydrochloride), glycine and the like); and, particularly, those of sulfonic acids, (such as 1,2-ethanedisulfonic acid, camphorsulfonic acids (including 1S-(+)-10-camphorsulfonic acid and (+/-)-camphorsulfonic acids), ethanesulfonic acid, a propanesulfonic acid (including *n*-propanesulfonic acid), a butanesulfonic acid, a pentanesulfonic acid, a toluenesulfonic acid, methanesulfonic acid, *p*-xylenesulfonic acid, 2-mesitylenesulfonic acid, naphthalenesulfonic acids (including 1,5-naphthalenesulfonic acid and naphthalenesulfonic acid), benzenesulfonic acid, hydroxybenzenesulfonic acids, 2-hydroxyethanesulfonic acid, 3-hydroxyethanesulfonic acid and the like).

Particularly preferred salts include those of C₁₋₄ (for example C₁₋₄) alkanesulfonic acids, such as ethanesulfonic acid (esylate) and propanesulfonic acid (for example *n*-propanesulfonic acid) and optionally substituted (for example with one or more C₁₋₂ alkyl groups) arylsulfonic acids, such as benzenesulfonic acid (besylate) and naphthalenedisulfonic acid.

Suitable stoichiometric ratios of acid to free base are in the range 0.25:1.5 to 3.0:1, such as 0.45:1.25 to 1.25:1, including 0.50:1 to 1:1.

According to a further aspect of the invention there is provided formulation comprising a compound of formula (I) in substantially crystalline form.

Although we have found that it is possible to produce compounds of the invention in forms which are greater than 80% crystalline, by "substantially crystalline" we include greater than 20%, preferably greater than 30%, and more preferably greater than 40% (e.g. greater than any of 50, 60, 70, 80 or 90%) crystalline.

According to a further aspect of the invention there is also provided a compound of the invention in partially crystalline form. By "partially crystalline" we include 5% or between 5% and 20% crystalline.

The degree (%) of crystallinity may be determined by the skilled person using X-ray powder diffraction (XRPD). Other techniques, such as solid state NMR, FT-IR, Raman

spectroscopy, differential scanning calorimetry (DSC) and microcalorimetry, may also be used.

Preferred compounds of formula (I) that may be prepared in crystalline form include salts of C₁₋₆ (for example C₂₋₆, such as C₂₋₄) alkanesulfonic acids, such as
5 ethanesulfonic acid, propanesulfonic acid (for example *n*-propanesulfonic acid) and optionally substituted arylsulfonic acids, such as benzenesulfonic acid and naphthalenedisulfonic acid.

The term "modified release" pharmaceutical composition will be well understood by the skilled person to include any composition/formulation in which the onset and/or rate of
10 release of drug is altered by galenic manipulations, and thus includes the definition provided in the *United States Pharmacopoeia* (USP XXII) at pages xliii and xliv of the preface/preamble part, the relevant disclosure in which document is hereby incorporated by reference.

In the present case, modified release may be provided for by way of an appropriate
15 pharmaceutically-acceptable carrier, and/or other means, which carrier or means (as appropriate) gives rise to an alteration of the onset and/or rate of release of active ingredient. Thus, the term will be understood by those skilled in the art to include compositions which are adapted (for example as described herein) to provide for a "sustained", a "prolonged" or an "extended" release of drug (in which drug is released at a
20 sufficiently retarded rate to produce a therapeutic response over a required period of time, optionally including provision for an initial amount of drug being made available within a predetermined time following administration to cause an initial desired therapeutic response); compositions which provide for a "delayed" release of drug (in which the release of drug is delayed until a specific region of the gastrointestinal tract is reached,
25 following which drug release may be either pulsatile or further modified as indicated above); as well as so-called "repeat action" compositions (in which one dose of drug is released either immediately or some time after administration and further doses are released at a later time).

We prefer that the compositions of the invention provide for a delayed release or,
30 more preferably, a sustained (that is prolonged or extended) release of drug over a period of

time. More preferred compositions of the invention may be adapted (for example as described herein) to provide a sufficient dose of drug over the dosing interval (irrespective of the number of doses per unit time) to produce a desired therapeutic effect. Release may be uniform and/or constant over an extended period of time, or otherwise.

5 Compositions of the invention may, for example, be in the form of the following, all of which are well known to those skilled in the art:

- 10 (a) Coated pellets, tablets or capsules, which may be designed to release at least some of the drug when the formulation in question reaches a particular region of the gastrointestinal tract. Such tablets may, for example be provided with some form of gastro-resistant coating, such as an enteric coating layer, providing for release of at least part of the drug present in the formulation in a specific part of the gastrointestinal tract, such as the intestinal regions.
- 15 (b) Multiple unit or multiparticulate systems, which may be in the form of microparticles, microspheres or pellets comprising drug (which multiple units/multiparticulates may provide for gradual emptying of the formulation containing drug from the stomach into the duodenum and further through the small and large intestine while releasing drug at a pre-determined rate).
- 20 (c) Formulations comprising dispersions or solid solutions of active compound in a matrix, which may be in the form of a wax, gum or fat, or, particularly, in the form of a polymer, in which drug release takes place by way of gradual surface erosion of the tablet and/or diffusion.
- 25 (d) Systems which comprise a bioadhesive layer, which layer may provide for prolonged retention of composition of the invention in a particular region of the gastrointestinal tract (for example the stomach). This includes floating or sinking systems (that is low and high density systems, respectively), as well as so-called "volume-enlarging" systems.
- (e) So-called "pendent" devices, in which drug is attached to an ion exchange resin, which provides for gradual release of drug by way of influence of other ions present in the gastrointestinal tract, for example, the acid environment of the stomach.

- (f) Devices in which release rate of drug is controlled by way of its chemical potential (for example the Osmotic Pump).
- (g) Systems in which drug is released by diffusion through membranes, including multilayer systems.
- 5 (h) Devices that act in accordance with an external signal, to release a small amount of drug.
- (i) Active, self-programmed systems, which may contain a sensing element, which element responds to a particular biological environment to modulate drug delivery.
- (j) Silastic controlled release depots, which release drug as a function of diffusion of water
10 and/or gastrointestinal fluids into the device via an entry/exit port, resulting in dissolution and subsequent release of drug.

The above principles are discussed at length in prior art references including *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 6, 57 (1984); *Medical Applications of Controlled Release*, Vol II, eds. Langer and Wise (1984) Boca Raton, Florida, at pages 1 to
15 34; *Industrial Aspects of Pharmaceuticals*, ed. Sandel, Swedish Pharmaceutical Press (1993) at pages 93 to 104; and pages 191 to 211 of "Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design", ed. M. E. Aulton (1988) (Churchill Livingstone); as well as the references cited in the above-mentioned documents, the disclosures in all of which documents are hereby incorporated by reference.

20 In another aspect the present invention provides an oral modified release formulation wherein R^2 is hydroxy or methoxy, (such as Compound A, B, C, G, H or J; R^2 is especially methoxy, for example Compound A, B or C) or a pharmaceutically acceptable salt thereof (especially a crystalline salt thereof; such as a C_{1-6} (for example C_{2-6} , such as C_{2-4}) alkane sulfonic acid salt, or an optionally substituted arylsulfonic acid salt).

25 The invention includes parenteral modified release formulations using compounds of formula (I). In a further aspect the present invention provides a parenteral modified release formulation wherein R^2 is hydrogen (such as Compound D, E or F).

In a still further aspect the invention provides a modified release formulation which comprises a gelling matrix. The matrix preferably comprises hydroxy propyl methyl
30 cellulose (HPMC), iota-carrageenan, sodium dodecyl sulphate (SDS) and/or xanthan gum.

More preferably the matrix comprises hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC), iota-carrageenan and/or PEO. The HPMC may be one or a mixture of two or more HPMCs of different viscosities or molecular weights (as described anywhere below).

The invention also provides a modified release formulation comprising one or more
5 HPMCs and one or more further components selected from the group comprising: iota-carrageenan, microcrystalline cellulose, a lubricant (such as sodium stearyl fumarate) or mannitol.

The invention further provides, in a further aspect, a modified release formulation comprising xanthan gum; or comprising iota-carrageenan and PEO (as described below).

10 Suitable modified release formulations may thus be prepared in accordance with standard techniques in pharmacy, as described herein or in the above-mentioned documents, and/or which are well known.

We prefer that, in the compositions of the invention, active ingredient is provided together with a pharmaceutically acceptable carrier. In particular, we prefer that
15 compositions of the invention are presented in the form of active ingredient in a polymer matrix.

In this respect, we prefer that the compositions of the invention are provided for oral administration in the form of a so-called "swelling" modified-release system, or a "gelling matrix" modified-release system, in which active ingredient is provided together
20 with a polymer that swells in an aqueous medium (that is a "hydrophilic gelling component"). The term "aqueous medium" is to be understood in this context to include water, and liquids which are, or which approximate to, those present in the gastrointestinal tract of a mammal. Such polymer systems typically comprise hydrophilic macromolecular structures, which in a dry form may be in a glassy, or at least partially crystalline, state, and
25 which swell when contacted with aqueous media. Modified release of drug is thus effected by one or more of the following processes: transport of solvent into the polymer matrix, swelling of the polymer, diffusion of drug through the swollen polymer and/or erosion of the polymer, one or more of which may serve to release drug slowly from the polymer matrix into an aqueous medium.

Thus, suitable polymeric materials (acting as carriers), which may be used as the hydrophilic gelling component of a gelling matrix modified-release composition include those with a molecular weight of above 5000 g/mol, and which either:

- (a) are at least sparingly soluble in; or
- 5 (b) swell when placed in contact with, aqueous media (as defined hereinbefore), so enabling release of drug from the carrier.

Suitable gelling matrix polymers, which may be synthetic or natural, thus include polysaccharides, such as maltodextrin, xanthan, scleroglucan dextran, starch, alginates, pullulan, hyaluronic acid, chitin, chitosan and the like; other natural polymers, such as
10 proteins (albumin, gelatin etc.), poly-L-lysine; sodium poly(acrylic acid); poly(hydroxyalkylmethacrylates) (for example poly(hydroxyethylmethacrylate)); carboxypolymethylene (for example Carbopol™); carbomer; polyvinylpyrrolidone; gums, such as guar gum, gum arabic, gum karaya, gum ghatti, locust bean gum, tamarind gum, gellan gum, gum tragacanth, agar, pectin, gluten and the like; poly(vinyl alcohol); ethylene
15 vinyl alcohol; poly(ethylene oxide) (PEO); and cellulose ethers, such as hydroxymethylcellulose (HMC), hydroxyethylcellulose (HEC), hydroxypropylcellulose (HPC), methylcellulose (MC), ethylcellulose (EC), carboxyethylcellulose (CEC), ethylhydroxyethylcellulose (EHEC), carboxymethylhydroxyethylcellulose (CMHEC), hydroxypropylmethyl-cellulose (HPMC), hydroxypropylethylcellulose (HPBC) and sodium
20 carboxymethylcellulose (Na CMC); as well as copolymers and/or (simple) mixtures of any of the above polymers. Certain of the above-mentioned polymers may further be crosslinked by way of standard techniques.

For the compositions of the invention in the form of gelling matrix systems, we prefer that the principal swelling polymer that is employed is HPC, maltodextrin,
25 scleroglucan or carboxypolymethylene, more preferably, PEO or xanthan, and, especially, HPMC, as well as copolymers and/or (simple) mixtures of any of these polymers. Iota-carrageenan is also preferred.

When PEO, xanthan and HPMC are employed in (that is, as at least one of the polymers of) the hydrophilic gelling component, preferred molecular weights (that is,
30 weight average molecular weights, as determined by standard techniques, such as

osmometry, size-exclusion chromatography with a refraction detector (in which molecular weight is determined by way of standard calibration curves), light scattering and/or ultracentrifuge techniques), for these polymers are in the range 5,000 g/mol up to 200,000,000 g/mol, such as up to 100,000,000 g/mol, preferably up to 25,000,000 g/mol and more preferably up to 20,000,000 g/mol. Mixtures of PEO, xanthan and HPMC polymers with different molecular weights within these ranges may be employed.

Suitable HPMC polymers also include those that produce 2% w/w solutions of polymer in water with viscosities, as measured by standard techniques, such as those described generally in the *United States Pharmacopoeia XXIV* (USP XXIV/NF19) at page 2002 *et seq.*, as well as, specifically, at pages 843 and 844 (the relevant disclosures in which document are hereby incorporated by reference), of between 3 and 150,000 cps (at 20°C), such as between 10 and 120,000 cps, preferably between 30 and 50,000 cps and more preferably between 50 and 15,000 cps. Mixtures of HPMC polymers with different viscosities within these ranges may be employed, in order, for example, to produce HPMC mixtures which produce solutions as mentioned above with "average" viscosities (i.e. a viscosity for the mixture) within the above-mentioned preferred ranges. Similarly, mixtures of HPMC polymers (with viscosities and/or "average" viscosities within these ranges) with other above-mentioned polymers may be employed. Suitable HPMC polymers include those fulfilling the *United States Pharmacopoeia* standard substitution types 2208, 2906, 2910 and 1828 (see USP XXIV/NF19 for further details). Suitable HPMC polymers thus include those sold under the trademark METHOCEL™ (Dow Chemical Corporation) or the trademark METOLOSE™ (Shin-Etsu).

Suitable xanthan polymers include those that produce 1% w/w solutions of polymer in water with viscosities, as measured by standard techniques, such as those described generally in the *United States Pharmacopoeia XXIV* (USP XXIV/NF19) at page 2002 *et seq.*, as well as, specifically, at pages 2537 and 2538 (the relevant disclosures in which document are hereby incorporated by reference), of between 60 and 2,000 cps (at 24°C), for example between 600 and 1,800 cps and preferably between 1,200 and 1,600 cps. Mixtures of xanthan polymers with different viscosities within these ranges may be employed, in order, for example, to produce xanthan mixtures which produce solutions as

mentioned above with "average" viscosities (i.e. a viscosity for the mixture) within the above-mentioned preferred ranges. Similarly, mixtures of xanthan polymers (with viscosities and/or "average" viscosities within these ranges) with other above-mentioned polymers may be employed. Suitable xanthan polymers include those sold under the trademarks XANTURALTM and KELTROLTM (CPKelco), and SATIAXANETM (Degussa, Texturant Systems).

The choice of polymer will be determined by the nature of the active ingredient/drug that is employed in the composition of the invention as well as the desired rate of release. In particular, it will be appreciated by the skilled person, for example in the case of HPMC, that a higher molecular weight will, in general, provide a slower rate of release of drug from the composition. Furthermore, in the case of HPMC, different degrees of substitution of methoxyl groups and hydroxypropoxyl groups will give rise to changes in the rate of release of drug from the composition. In this respect, and as stated above, it may be desirable to provide compositions of the invention in the form of gelling matrix systems in which the polymer carrier is provided by way of a blend of two or more polymers of, for example, different molecular weights, for example as described hereinafter, in order to produce a particular required or desired release profile.

When in the form of gelling matrix systems, we have also found that rate of release of drug from compositions of the invention may be further controlled by way of controlling the drug:polymer ratio within, and the surface area:volume ratio of, individual compositions (for example tablets) comprising drug and polymer carrier system.

Compositions of the invention, whether in the form of a gelling matrix system or otherwise, may contain one or more further excipients (in addition to the polymer carrier system) to further modify drug release, to improve the physical and/or chemical properties of the final composition, and/or to facilitate the process of manufacture. Such excipients are conventional in the formulation of modified release compositions.

For example, compositions of the invention may contain one or more of the following diluents: calcium phosphate (monocalcium phosphate, dicalcium phosphate and tricalcium phosphate), lactose, microcrystalline cellulose, mannitol, sorbitol, titanium

dioxide, aluminium silicate and the like. Preferred diluents include microcrystalline cellulose and also mannitol.

Compositions of the invention may contain one or more of the following lubricants: magnesium stearate, sodium stearyl fumarate and the like.

5 Compositions of the invention may contain a glidant, such as a colloidal silica.

Compositions of the invention may contain one or more of the following binders: polyvinylpyrrolidone, lactose, mannitol, microcrystalline cellulose, a polyethylene glycol (PEG), a HPMC of a low molecular weight, a MC of a low molecular weight, a HPC of a low molecular weight and the like. Preferred binders include microcrystalline cellulose.

10 Compositions of the invention may contain one or more of the following pH controlling agents: organic acids (for example, citric acid and the like) or alkali metal (for example sodium) salts thereof, pharmaceutically acceptable salts (for example sodium, magnesium or calcium salts) of inorganic acids (such as carbonic acid or phosphoric acid), oxides of magnesium, as well as alkali, and alkaline earth metal (for example sodium,
15 calcium, potassium and the like) sulphates, metabisulphates, propionates and sorbates.

Other further excipients may include colourants, flavourings, solubilising agents (such as SDS), coating agents, preservatives, etc.

Combinations of the above-stated further excipients may be employed.

It will be appreciated that some of the above mentioned further excipients, which
20 may be present in the final composition of the invention, may have more than one of the above-stated functions. Moreover, further excipients mentioned above may also function as part of a hydrophilic gelling component in a gelling matrix system.

The total amount of further excipients (not including, in the case of gelling matrix systems, the principal polymer carrier(s)) that may be present in the composition of the
25 invention will depend upon the nature of the composition, as well as the nature, and amounts of, the other constituents of that composition, and may be an amount of up to 85%, for example between 0.1 to 75%, such as 0.2 to 65%, preferably 0.3 to 55%, more preferably 0.5 to 45% and especially 1 to 40%, such as 2 to 35% w/w. In any event, the choice, and amount, of excipient(s) may be determined routinely (that is without recourse
30 to inventive input) by the skilled person.

In gelling matrix systems, the amount of polymer in the system should be enough to ensure that a sufficient dose of drug is provided over the dosing interval to produce the desired therapeutic effect. Thus, for a gelling matrix system, we prefer that it takes at least 2 hours (preferably at least 4 hours, especially at least 6 hours) for 80% (especially 60%) of the initial drug content of the composition to be released to a patient after administration under the test conditions described hereinafter, and particularly over a period of between 8 and 24 hours. Most preferably at least 80% of the initial drug content of the composition is released at a time somewhere between 8 and 24 hours. Suitable amounts of polymer that may be included, which will depend upon *inter alia* the active ingredient that is employed in the composition, any excipients that may be present and the nature of the polymer that is employed, are in the range 5 to 99.5%, for example 10 to 95%, preferably 30 to 80% w/w. In any event, the choice, and amount, of polymer may be determined routinely by the skilled person.

In another preferred formulation we prefer that the compounds of the invention are formulated together in a gelling matrix composition comprising iota-carrageenan and one or more neutral gelling polymers.

Iota-carrageenan is preferably present in such a preferred preparation at a level of more than 15% by weight. Preferred grades of iota-carrageenan include pharmaceutical grade iota-carrageenan (for example, available from FMC Biopolymer), which has a viscosity of not less than 5 centipoise (cps), preferably in the range 5-10 cps (for a 1.5% solution warmed to 82°C, after which the viscosity is measured at 75°C with a Brookfield LV viscometer fitted with a #1 spindle running at a speed of 30rpm), and technical grade iota-carrageenan (for example, available from Fluka Biochemica), which preferably has a viscosity of not less than 14 mPa.s, for a 0.3 % aqueous solution warmed to 20°C, after which the viscosity is measured using a fallingball viscometer, of type Haake, used together with a Lauda thermostat C3 and Hakke Mess-System III, and using gold-coated stainless steel balls of density 7.8 g/cm³.

The neutral gelling polymer may be a single, or a mixture of more than one, neutral polymer(s) having gelling properties and having substantially pH-independent solubility.

The neutral gelling polymer is, preferably, present in the formulation at a level of more than 10% but preferably more than 20% by weight.

Suitable neutral gelling polymers include polyethylene oxide (PEO), derivatives and members of the PEO family (for example, polyethylene glycol (PEG)), preferably existing naturally in the solid state, of suitable molecular weight or viscosity. If used as a single neutral gelling polymer, a PEO preferably has a MW of ≥ 4 million (4M), corresponding to an aqueous solution viscosity range of 1650-5500 mPa.s (or 1650-5500 cps; measured for a 1% aqueous solution at 25°C, using a Brookfield RVF viscometer, with No. 2 spindle, at 2 rpm). Other examples of suitable PEOs include a PEO of MW around 5 million (5M), corresponding to an aqueous solution viscosity range of 5500 - 7500 mPa.s, or a PEO MW around 8 million (8M), corresponding to an aqueous solution viscosity range of 10000-15000 mPa.s. This range covers the value for typical solution viscosity (in cps) measured at 25°C, quoted for this polymer, in the USP 24/NF 19, 2000 edition, pp. 2285-2286. If PEG is used as a single neutral gelling polymer it preferably has a high molecular weight, for example, a MW of around 20000, corresponding to a viscosity range of 2700-3500 mPa.s (or 2700-3500 cps), measured using a 50% aqueous solution (w/w) at 20°C, using a capillary viscometer (Ubbelohde or equivalent). [Ref: European Pharmacopoeia 3rd Ed., 2000, Supplement, pp. 908-909.]

Other suitable neutral gelling polymers include cellulose derivatives such as hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC) or hydroxyethylcellulose (HEC) with suitably high viscosities (for example "HPMC 50 cps", "HPMC 10000 cps", "HPMC 15000 cps", "HEC type HH" or "HEC type H"). When used as a single neutral polymer, hydroxypropylmethyl cellulose polymers like "HPMC 10000 cps" and "HPMC 15000 cps" have, respectively, apparent viscosities of 7500-14000 mPa.s (or 7500 - 14000 cps), and 11250-21000 mPa.s (or 11250-21000 cps), when measured at 20°C with a 2% (w/w) aqueous solution, calculated with reference to the dried substance, using a capillary viscometer (Ubbelohde or equivalent). One type of hydroxyethylcellulose polymer, for example, "Natrosol 250 Pharma, type HH", from Hercules Incorporated (Aqualon), shows typically a Brookfield viscosity of about 20,000 mPa.s using a Brookfield Synchro-Lectric Model LVP instrument, at the conditions 1% solution concentration, spindle no. 4, spindle

speed 30 rpm, factor 200, 25°C (See Natrosol Physical and Chemical Properties booklet, 33.007-E6 (1993), p. 21).

Particular formulations that may be mentioned include those in which compound of the invention is formulated together with iota-carageenan and HPMC (10,000 cps) in a 50:50 (wt %) ratio, or together with iota-carageenan and HPMC (50 cps) & HPMC (10,000 cps) in a 35:60:5 (wt %) ratio, or together with iota-carageenan and PBO 4M in a 50:50 (wt %) ratio. Preferred additional excipients in such formulations include lubricants, such as sodium stearyl fumarate.

In one aspect the invention provides a non-injectable formulation of the invention comprising Compound A, B or C or a salt thereof; an HPMC and a lubricant (such as sodium stearyl fumarate). In a further aspect the formulation may comprise a mixture of 2 or more HPMCs of different viscosities (such as 10,000cPs and 50 cPs). Further, the formulation may additionally comprise a solubilising agent [such as sodium dodecyl sulphate (SDS), sodium lauryl sulphate or polyoxyl 40 hydrogenated castor oil].

Suitable amounts of active ingredient in the compositions of the invention, whether in the form of gelling matrix systems or otherwise, depend upon many factors, such as the nature of that ingredient (free base/salt etc), the dose that is required, and the nature, and amounts, of other constituents of the composition. However, they may be in the range 0.5 to 80%, for example 1 to 75%, such as 3 to 70%, preferably 5 to 65%, more preferably 10 to 60% and especially 15 to 55% w/w. In any event, the amount of active ingredient to be included may be determined routinely by the skilled person.

A typical daily dose of a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is in the range 0.001 to 100 mg/kg body weight of free base (that is, in the case of a salt, excluding any weight resulting from the presence of a counter ion), irrespective of the number of individual doses that are administered during the course of that day. A preferred daily dose is in the range 20-500 mg.

Compositions of the invention such as those described hereinbefore may be made in accordance with well known techniques such as those described in the references mentioned hereinbefore. Compositions of the invention that are in the form of gelling matrix systems may be prepared by standard techniques, and using standard equipment,

known to the skilled person, including wet or dry granulation, direct compression/compaction, drying, milling, mixing, tableting and coating, as well as combinations of these processes, for example as described hereinafter.

Although compositions of the invention are preferably adapted to be administered orally, their use is not limited to that mode of administration. Parenteral modified release compositions of the invention, which may include systems that are well known to those skilled in the art, such as those based upon poloxamers, biodegradable microspheres, liposomes, suspensions in oils and/or emulsions, may be prepared in accordance with standard techniques, for example as described by Leung *et al* in "Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications" (*Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol. 29), 2nd edition, eds. Robinson and Lee, Dekker (1987) at Chapter 10, page 433, the disclosure in which document is hereby incorporated by reference.

The compositions of the invention may be dosed once or more times daily (preferably once, but no more than twice, daily), irrespective of the number of individual units (formulations/compositions) that are administered as part of one "dose".

The formulations of the invention are administered to mammalian patients (including humans), and, for compounds of formula (I) wherein R^2 is not hydrogen, are thereafter metabolised in the body to form compounds of formula (I) wherein R^2 is hydrogen that are pharmacologically active.

According to a further aspect of the invention there is thus provided a formulation of the invention for use as a pharmaceutical.

In particular, the compounds of formula (I) are, or are metabolised following administration to form, potent inhibitors of thrombin, for example as may be demonstrated in the tests described in *inter alia* international patent application No. PCT/SE01/02657, as well as international patent applications WO 02/14270, WO 01/87879 and WO 00/42059, the relevant disclosures in which documents are hereby incorporated by reference.

By "prodrug of a thrombin inhibitor", we include compounds that are metabolised following administration and form a thrombin inhibitor, in an experimentally-detectable amount, following administration.

By "active ingredient" and "active substance" we mean the pharmaceutical agent (covering thrombin inhibitor and prodrugs thereof) present in the formulation.

The formulations of the invention are thus expected to be useful in those conditions where inhibition of thrombin is required, and/or conditions where anticoagulant therapy is indicated, including the following:

The treatment and/or prophylaxis of thrombosis and hypercoagulability in blood and/or tissues of animals including man. It is known that hypercoagulability may lead to thrombo-embolic diseases. Conditions associated with hypercoagulability and thrombo-embolic diseases which may be mentioned include inherited or acquired activated protein C resistance, such as the factor V-mutation (factor V Leiden), and inherited or acquired deficiencies in antithrombin III, protein C, protein S, heparin cofactor II. Other conditions known to be associated with hypercoagulability and thrombo-embolic disease include circulating antiphospholipid antibodies (Lupus anticoagulant), homocysteinemia, heparin induced thrombocytopenia and defects in fibrinolysis, as well as coagulation syndromes (for example disseminated intravascular coagulation (DIC)) and vascular injury in general (for example due to surgery).

The treatment of conditions where there is an undesirable excess of thrombin without signs of hypercoagulability, for example in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease.

Particular disease states which may be mentioned include the therapeutic and/or prophylactic treatment of venous thrombosis (for example DVT) and pulmonary embolism, arterial thrombosis (e.g. in myocardial infarction, unstable angina, thrombosis-based stroke and peripheral arterial thrombosis), and systemic embolism usually from the atrium during atrial fibrillation (for example non-valvular atrial fibrillation) or from the left ventricle after transmural myocardial infarction, or caused by congestive heart failure; prophylaxis of re-occlusion (that is thrombosis) after thrombolysis, percutaneous trans-luminal angioplasty (PTA) and coronary bypass operations; the prevention of re-thrombosis after microsurgery and vascular surgery in general.

Further indications include the therapeutic and/or prophylactic treatment of disseminated intravascular coagulation caused by bacteria, multiple trauma, intoxication or

any other mechanism; anticoagulant treatment when blood is in contact with foreign surfaces in the body such as vascular grafts, vascular stents, vascular catheters, mechanical and biological prosthetic valves or any other medical device; and anticoagulant treatment when blood is in contact with medical devices outside the body such as during

5 cardiovascular surgery using a heart-lung machine or in haemodialysis; the therapeutic and/or prophylactic treatment of idiopathic and adult respiratory distress syndrome, pulmonary fibrosis following treatment with radiation or chemotherapy, septic shock, septicemia, inflammatory responses, which include, but are not limited to, edema, acute or chronic atherosclerosis such as coronary arterial disease and the formation of

10 atherosclerotic plaques, cerebral arterial disease, cerebral infarction, cerebral thrombosis, cerebral embolism, peripheral arterial disease, ischaemia, angina (including unstable angina), reperfusion damage, restenosis after percutaneous trans-luminal angioplasty (PTA) and coronary artery bypass surgery.

The formulation of the present invention may also comprise any

15 antithrombotic agent(s) with a different mechanism of action to that of the compounds of formula (I), such as one or more of the following: the antiplatelet agents acetylsalicylic acid, ticlopidine and clopidogrel; thromboxane receptor and/or synthetase inhibitors; fibrinogen receptor antagonists; prostacyclin mimetics; phosphodiesterase inhibitors; ADP-receptor (P_2T) antagonists; and

20 inhibitors of carboxypeptidase U (CPU).

Compounds of formula (I) that inhibit trypsin and/or thrombin may also be useful in the treatment of pancreatitis.

The formulations of the invention are thus indicated both in the therapeutic and/or prophylactic treatment of these conditions.

25 The formulations of the invention are useful in the delivery of a compound of formula (I) or a salt thereof to a patient. As the compounds of formula (I), and salts thereof, are useful in both the prophylaxis and the treatment of thrombosis, the formulations of the invention are also useful in the treatment of such a disorder.

According to a further aspect of the invention, there is provided a method of treatment of thrombosis which method comprises administration of a formulation of the invention to a person suffering from, or susceptible to, such a condition.

In a still further aspect the present invention provides a formulation of the invention
5 in the manufacture of a medicament for use in the treatment of thrombosis.

For the avoidance of doubt, by "treatment" we include the therapeutic treatment, as well as the prophylaxis, of a condition.

The compositions of the invention have the advantage that they may provide a modified release of the compounds of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt of
10 any of these compounds, in order to obtain a more even and/or prolonged effect against thrombosis and may thus provide efficient dosing of active ingredient preferably no more than once or twice daily.

Compositions of the invention may also have the advantage that they may be prepared using established pharmaceutical processing methods and employ materials that
15 are approved for use in foods or pharmaceuticals or of like regulatory status.

Compounds of formula (I) can be prepared using the following procedures.

General Procedures

TLC was performed on silica gel. Chiral HPLC analysis was performed using a 46
20 mm X 250 mm Chiralcel OD column with a 5 cm guard column. The column temperature was maintained at 35°C. A flow rate of 1.0 mL/min was used. A Gilson 115 UV detector at 228 nm was used. The mobile phase consisted of hexanes, ethanol and trifluoroacetic acid and the appropriate ratios are listed for each compound. Typically, the product was dissolved in a minimal amount of ethanol and this was diluted with the mobile phase.

25 In Preparations A to I below, LC-MS/MS was performed using a HP-1100 instrument equipped with a CTC-PAL injector and a 5 Tm, 4x100 mm ThermoQuest, Hypersil BDS-C18 column. An API-3000 (Sciex) MS detector was used. The flow rate was 1.2 mL/min and the mobile phase (gradient) consisted of 10-90% acetonitrile with 90-10% of 4 mM aq. ammonium acetate, both containing 0.2% formic acid. Otherwise, low
30 resolution mass spectra (LRMS) were recorded using a Micromass ZQ spectrometer in ESI

posneg switching ion mode (mass range m/z 100-800); and high resolution mass spectra (HRMS) were recorded using a Micromass LCT spectrometer in ES negative ionization mode (mass range m/z 100-1000) with Leucine Enkephalin ($C_{28}H_{37}N_5O_7$) as internal mass standard.

5 1H NMR spectra were recorded using tetramethylsilane as the internal standard.

Processes for the synthesis of compounds of formula (I) are contained in International Patent Application No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, earliest priority date 01 December 2000, filed 30 November 2001, published 06 June 2002)), relevant
10 information from which is incorporated herein.

Preparation A : Preparation of Compound A

(i) 3-Chloro-5-methoxybenzaldehyde

3,5-Dichloroanisole (74.0 g, 419 mmol) in THF (200 mL) was added dropwise to
15 magnesium metal (14.2 g, 585 mmol, pre-washed with 0.5 N HCl) in THF (100 mL) at 25°C. After the addition, 1,2-dibromoethane (3.9 g, 20.8 mmol) was added dropwise. The resultant dark brown mixture was heated at reflux for 3 h. The mixture was cooled to 0°C, and *N,N*-dimethylformamide (60 mL) was added in one portion. The mixture was partitioned with diethyl ether (3 x 400 mL) and 6N
20 HCl (500 mL): The combined organic extracts were washed with brine (300 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give an oil. Flash chromatography (2x) on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the subtitle compound (38.9 g, 54%) as a yellow oil.

25 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.90 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 3.87 (s, 3H).

(ii) 3-Chloro-5-hydroxybenzaldehyde

A solution of 3-chloro-5-methoxybenzaldehyde (22.8 g, 134 mmol; see step (i)
30 above) in CH_2Cl_2 (250 mL) was cooled to 0°C. Boron tribromide (15.8 mL, 167

mmol) was added dropwise over 15 min. After stirring, the reaction mixture for 2 h, H₂O (50 mL) was added slowly. The solution was then extracted with Et₂O (2 x 100 mL). The organic layers were combined, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with
5 Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (5.2 g, 25%):

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.85 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 3.68 (s, 1H)

10 (iii) 3-Chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde

A solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (7.5g, 48 mmol; see step (ii) above) in 2-propanol (250 mL) and 30% KOH (100 mL) was heated to reflux. While stirring, CHClF₂ was bubbled into the reaction mixture for 2 h. The reaction mixture was cooled, acidified with 1N HCl and extracted with
15 EtOAc (2 x 100 mL). The organics were washed with brine (100 mL), dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (4.6 g, 46%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.95 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.60 (t, *J*_{H-F} = 71:1 Hz, 1H)
20

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCF₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

A solution of 3-chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde (4.6 g, 22.3 mmol; see step (iii) above) in CH₂Cl₂ (200 mL) was cooled to 0°C. ZnI₂ (1.8 g, 5.6 mmol) and trimethylsilyl cyanide (2.8 g, 27.9 mmol) were added and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 15 h. The mixture was partially concentrated *in vacuo* yielding the sub-title compound as a liquid, which was used directly in step (v) below without further purification or characterization.

30 (v) Ph(3-Cl)(5-OCF₂)-(R,S)CH(OH)C(=O)NHOBt

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OTMS)CN (6.82 g, assume 22.3 mmol; see step (iv) above) was added dropwise to HCl/EtOH (500 mL). The reaction mixture was stirred 15 h, then partially concentrated *in vacuo* yielding the sub-title compound as a liquid, which was used in step (vi) without further purification or

5 characterization.

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt (6.24 g, assume 22.3 mmol; see step (v) above) was dissolved in THF (250 mL), 0.5M H₂SO₄ (400 mL) was added and

10 the reaction was stirred at 40°C for 65 h, cooled and then partially concentrated *in vacuo* to remove most of the THF. The reaction mixture was then extracted with Et₂O (3 x 100 mL), dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound as a solid, which was used in step (vii) without further purification or characterization.

15

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

A solution of Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt (6.25 g, assume 22.3 mmol; see step (vi) above) in 2-propanol (175 mL) and 20% KOH (350 mL) was stirred at room temperature 15 h. The reaction was then partially concentrated *in*

20 *vacuo* to remove most of the 2-propanol. The remaining mixture was acidified with 1M H₂SO₄, extracted with Et₂O (3 x 100 mL), dried (Na₂SO₄) and concentrated *in vacuo* to give a solid. Flash chromatography on silica gel eluting with CHCl₃:MeOH:concentrated NH₄OH (6:3:1) afforded the ammonium salt of the sub-title compound. The ammonium salt was then dissolved in a mixture of

25 EtOAc (75 mL) and H₂O (75 mL) and acidified with 2N HCl. The organic layer was separated and washed with brine (50 mL), dried (Na₂SO₄) and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (3.2 g, 57% from steps (iv) to (vii)).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_H = 71.1 Hz, 1H), 5.16 (s, 1H)

30

28

**(viii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-
(S)CH(OAc)C(O)OH (b)**

A mixture of Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (3.2 g, 12.7 mmol; see
5 step (vii) above) and Lipase PS "Amano" (~2.0 g) in vinyl acetate (125 mL) and
MTBE (125 mL) was heated at reflux for 48 h. The reaction mixture was cooled,
filtered through Celite® and the filter cake washed with EtOAc. The filtrate was
concentrated *in vacuo* and subjected to flash chromatography on silica gel eluting
with CHCl₃:MeOH:concentrated NH₄OH (6:3:1) yielding the ammonium salts of
10 the sub-title compounds (a) and (b). Compound (a) as a salt was dissolved in H₂O,
acidified with 2N HCl and extracted with EtOAc. The organic layer was washed
with brine, dried (Na₂SO₄), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-
title compound (a) (1.2 g, 37%).

15 For sub-title compound (a)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, *J*_H-
r = 71.1 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

20 To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (1.1 g, 4.4 mmol; see
step (viii) above) and H-Aze-Pab(Teoc) (see international patent application WO
00/42059, 2.6 g, 5.7 mmol) in DMF (50 mL) at 0°C was added PyBOP (2.8 g, 5.3
mmol) and collidine (1.3 g, 10.6 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h
and then at room temperature for an additional 15 h. The reaction mixture was
25 concentrated *in vacuo* and flash chromatographed on silica gel (3 x), eluting first
with CHCl₃:EtOH (9:1), then with EtOAc:EtOH (20:1) and finally eluting with
CH₂Cl₂:CH₃OH (95:5) to afford the sub-title compound (1.0 g, 37%) as a white
solid.

29

25

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, mixture of rotamers) δ 7.79-7.85 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.15-7.48 (m, 5H), 6.89 and 6.91 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.12 and 5.20 (s, 1H), 4.75-4.85 (m, 1H), 3.97-4.55 (m, 6H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.15 (m, 2H), 0.09 (s, 9H)

5 MS (m/z) 611 ($M + 1$)⁺

(x) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.40 g, 0.65 mmol; see step (ix) above), was dissolved in 20 mL of acetonitrile and 0.50 g (6.0 mmol) of O-methyl hydroxylamine hydrochloride was added. The mixture was heated at 70°C
10 for 2 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and ethyl acetate. The aqueous phase was extracted twice more with ethyl acetate and the combined organic phase was washed with water, brine, dried (Na₂SO₄), filtered and evaporated. Yield: 0.41 g (91%).

15

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃) : δ 7.83 (bt, 1H), 7.57 (bs, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.47 (m, 2H), 4.4-4.2 (b, 1H), 4.17-4.1 (m, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.42 (m, 1H) 0.97 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

20

(xi) Compound A

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc) (0.40 g, 0.62 mmol; see step (x) above), was dissolved in 5 mL of TFA and allowed to react for 30 min. TFA was evaporated and the residue was partitioned between ethyl acetate
25 and NaHCO₃ (aq.). The aqueous phase was extracted twice more with ethyl acetate and the combined organic phase was washed with water, brine, dried (Na₂SO₄), filtered and evaporated. The product was freeze dried from water/acetonitrile. No purification was necessary. Yield: 0.28 g (85%).

4-30

¹H-NMR (600 MHz; CDCl₃): δ 7.89 (bt, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.28 (d, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.13 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.51 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.80 (bs, 2H), 4.48 (dd, 1H), 4.43 (dd, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.40 (m, 1H).

5 ¹³C-NMR (125 MHz; CDCl₃): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.9, 170.8, 152.7, 152.6

HRMS calculated for C₂₂H₂₃ClF₂N₄O₃ (M-H)⁺ 495.1242, found 495.1247

Preparation B : Preparation of Compound B

10 (i) 2,6-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile
(Methylsulfinyl)(methylthio)methane (7.26g, 0.0584 mol) was dissolved in 100 mL of dry THF under argon and was cooled to -78°C. Butyllithium in hexane (16 mL 1.6M, 0.0256 mol) was added dropwise with stirring. The mixture was stirred for 15 min. Meanwhile, a solution of 3,4,5-trifluorobenzonitrile (4.0 g, 0.025
15 mmol) in 100 mL of dry THF was cooled to -78°C under argon and the former solution was added through a cannula to the latter solution over a period of 35 min. After 30 min, the cooling bath was removed and when the reaction had reached room temperature it was poured into 400 mL of water. The THF was evaporated and the remaining aqueous layer was extracted three times with diethyl
20 ether. The combined ether phase was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. Yield: 2.0 g (30%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.4-7.25 (m, 2H), 5.01 (s, 1H, diastereomer), 4.91 (s, 1H, diastereomer), 2.88 (s, 3H, diastereomer), 2.52 (s, 3H, diastereomer), 2.49 (s, 3H, diastereomer), 2.34 (s, 3H, diastereomer), 1.72 (broad, 1H)
25

(ii) 2,6-Difluoro-4-formylbenzonitrile

2,6-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile (2.17 g, 8.32 mmol; see step (i) above) was dissolved in 90 mL of THF and 3.5 mL of
30 concentrated sulfuric acid was added. The mixture was left at room temperature

3231

for 3 days and subsequently poured into 450 mL of water. Extraction three times with EtOAc followed and the combined ethereal phase was washed twice with aqueous sodium bicarbonate and with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated.

Yield: 1.36 g (98%). The position of the formyl group was established by ^{13}C

- 5 NMR. The signal from the fluorinated carbons at 162.7 ppm exhibited the expected coupling pattern with two coupling constants in the order of 260 Hz and 6.3 Hz respectively corresponding to an *ipso* and a *meta* coupling from the fluorine atoms.

- 10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 10.35 (s, 1H), 7.33 (m, 2H)

(iii) 2,6-Difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile

2,6-Difluoro-4-formylbenzonitrile (1.36 g, 8.13 mmol; see step (ii) above) was dissolved in 25 mL of methanol and cooled on an ice bath. Sodium borohydride

- 15 (0.307 g, 8.12 mmol) was added in portions with stirring and the reaction was left for 65 min. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between diethyl ether and aqueous sodium bicarbonate. The ethereal layer was washed with more aqueous sodium bicarbonate and brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product crystallised soon and could be used without further purification.

- 20 Yield: 1.24 g (90%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.24 (m, 2H), 4.81 (s, 2H), 2.10 (broad, 1H)

(iv) 4-Cyano-2,6-difluorobenzyl methanesulfonate

- 25 To an ice cooled solution of 2,6-difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile (1.24 g, 7.32 mmol; see step (iii) above) and methanesulfonyl chloride (0.93 g, 8.1 mmol) in 60 mL of methylene chloride was added triethylamine (0.81 g, 8.1 mmol) with stirring. After 3 h at 0°C , the mixture was washed twice with 1M HCl and once with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without
- 30 further purification. Yield: 1.61 g (89%).

32

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (m, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(v) 4-Azidomethyl-2,6-difluorobenzonitrile

- 5 A mixture of 4-cyano-2,6-difluorobenzyl methanesulfonate (1.61 g, 6.51 mmol; see step (iv) above) and sodium azide (0.72 g, 0.0111 mol) in 10 mL of water and 20 mL of DMF was stirred at room temperature overnight. The resultant was subsequently poured into 200 mL of water and extracted three times with diethyl ether. The combined ethereal phase was washed five times with water, dried
- 10 (Na₂SO₄) and evaporated. A small sample was evaporated for NMR purposes and the product crystallised. The rest was evaporated cautiously but not until complete dryness. Yield (theoretically 1.26 g) was assumed to be almost quantitative based on NMR and analytical HPLC.

- 15 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (m, 2H), 4.46 (s, 2H)

(vi) 4-Aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile

- This reaction was carried out according to the procedure described in *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. To a suspension of 520 mg of 10% Pd/C (50% moisture) in
- 20 20 mL of water was added a solution of sodium borohydride (0.834 g, 0.0221 mol) in 20 mL of water. Some gas evolution resulted. 4-Azidomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (1.26 g, 6.49 mmol; see step (v) above) was dissolved in 50 mL of THF and added to the aqueous mixture on an ice bath over 15 min. The mixture was stirred for 4 h, whereafter 20 mL of 2M HCl was added and the
- 25 mixture was filtered through Celite. The Celite was rinsed with more water and the combined aqueous phase was washed with EtOAc and subsequently made alkaline with 2M NaOH. Extraction three times with methylene chloride followed and the combined organic phase was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. Yield: 0.87 g (80%).

33

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.20 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.51 (broad, 2H)

(vii) 2,6-Difluoro-4-tert-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile

A solution of 4-aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (0.876 g, 5.21 mmol; see
5 step (vi) above) was dissolved in 50 mL of THF and di-tert-butyl dicarbonate
(1.14 g, 5.22 mmol) in 10 mL of THF was added. The mixture was stirred for 3.5
h. The THF was evaporated and the residue was partitioned between water and
EtOAc. The organic layer was washed three times with 0.5 M HCl and water,
dried (Na₂SO₄) and evaporated. The product could be used without further
10 purification. Yield: 1.38 g (99%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.21 (m, 2H), 4.95 (broad, 1H), 4.43 (broad, 2H),
1.52 (s, 9H)

15 (viii) Boc-Pab(2,6-diF)(OH)

A mixture of 2,6-difluoro-4-tert-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile (1.38 g,
5.16 mmol; see step (vii) above), hydroxylamine hydrochloride (1.08 g, 0.0155
mol) and triethylamine (1.57 g, 0.0155 mol) in 20 mL of ethanol was stirred at
room temperature for 36 h. The solvent was evaporated and the residue was
20 partitioned between water and methylene chloride. The organic layer was washed
with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. The product could be used without
further purification. Yield: 1.43 g (92%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.14 (m, 2H), 4.97 (broad, 1H), 4.84 (broad, 2H),
25 4.40 (broad, 2H), 1.43 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc

This reaction was carried out according to the procedure described by Judkins *et al*, *Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,6-diF)(OH) (1.32 g, 4.37 mmol; see
30 step (viii) above), acetic anhydride (0.477 g, 4.68 mmol) and 442 mg of 10% Pd/C

234

30

(50% moisture) in 100 mL of acetic acid was hydrogenated at 5 atm pressure for 3.5 h. The mixture was filtered through Celite, rinsed with ethanol and evaporated. The residue was freeze-dried from acetonitrile and water and a few drops of ethanol. The sub-title product could be used without further purification.

5 Yield: 1.49 g (99%).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (m, 2H), 4.34 (s, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)

10 (x) Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc)

To a solution of Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc (1.56 g, 5.49 mmol; see step (ix) above) in 100 mL of THF and 1 mL of water was added 2-(trimethylsilyl)ethyl p-nitrophenyl carbonate (1.67 g, 5.89 mmol). A solution of potassium carbonate (1.57 g, 0.0114 mol) in 20 mL of water was added dropwise over 5 min. The mixture was stirred overnight. The THF was evaporated and the residue was partitioned between water and methylene chloride. The aqueous layer was extracted with methylene chloride and the combined organic phase was washed twice with aqueous sodium bicarbonate, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with heptane/EtOAc = 2/1 gave 1.71 g (73%) of pure compound.

15
20

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (m, 2H), 4.97 (broad, 1H), 4.41 (broad, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

25 (xi) Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1.009 g, 2.35 mmol; see step (x) above) was dissolved in 50 mL of EtOAc saturated with HCl(g). The mixture was left for 10 min., evaporated and dissolved in 18 mL of DMF, and then cooled on an ice bath. Boc-Aze-OH (0.450 g, 2.24 mmol), PyBOP (1.24 g, 2.35 mmol) and lastly diisopropylethyl amine (1.158 g, 8.96 mmol) were added. The reaction mixture

30

35

was stirred for 2 h and then poured into 350 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with heptane:EtOAc (1:3) gave 1.097 g (96%) of the desired compound.

5

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 4.23 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.10 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

(xii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)}$

10 Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (0.256 g, 0.500 mmol; see step (xi) above) was dissolved in 20 mL of EtOAc saturated with HCl(g) . The mixture was left for 10 min. and evaporated and dissolved in 5 mL of DMF. $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0.120 g, 0.475 mmol; see Preparation A(viii) above), PyBOP (0.263 g, 0.498 mmol) and lastly diisopropylethyl amine (0.245 g, 1.89
15 mmol) were added. The reaction mixture was stirred for 2 h and then poured into 350 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with EtOAc gave 0.184 g (60%) of the desired sub-
title compound.

20

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , mixture of rotamers) δ 7.55-7.45 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, major rotamer), 7.27 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.12 (m, 1H, minor rotamer), 5.06 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer),
25 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.24 (m, 2H), 4.13 (m, 1H, major rotamer), 4.04 (m, 1H, minor rotamer), 3.95 (m, 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.22 (m, 1H, major rotamer), 2.10 (m, 1H, minor rotamer), 1.07 (m, 2H), 0.07 (m, 9H)

30 (xiii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe.Teoc)}$

7/36

A mixture of Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (64 mg, 0.099 mmol; see step (xii) above) and O-methyl hydroxylamine hydrochloride (50 mg, 0.60 mmol) in 4 mL of acetonitrile was heated at 70°C for 3 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and EtOAc.

- 5 The aqueous layer was extracted twice with EtOAc and the combined organic phase was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 58 mg (87%).

- ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.90 (bt, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.25-6.95 (m, 5H),
10 6.51, t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.4-3.9 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.63 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.87 (broad, 1H), 0.98 (m, 2H), 0.01, s, 9H)

(xiv) Compound B

- 15 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe,Teoc) (58 mg, 0.086 mmol; see step (xiii) above) was dissolved in 3 mL of TFA, cooled on an ice bath and allowed to react for 2 h. The TFA was evaporated and the residue dissolved in EtOAc. The organic layer was washed twice with aqueous sodium carbonate and water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was freeze-
20 dried from water and acetonitrile to give 42 mg (92%) of the title compound.

- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (bt, 1H), 7.2-7.1 (m, 4H), 6.99 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.85-4.75 (m, 3H), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.29 (broad, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.85 (broad, 1H)
25 ¹³C-NMR (100 MHz; CDCl₃): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.1, 169.8, 151.9

APCI-MS: (M + 1) = 533/535 m/z

Preparation C: Preparation of Compound C

- 30 (i) (2-Monofluoroethyl) methanesulfonate

37

To a magnetically stirred solution of 2-fluoroethanol (5.0 g, 78.0 mmol) in CH_2Cl_2 (90 mL) under nitrogen at 0°C was added triethylamine (23.7 g, 234 mmol) and methanesulfonyl chloride (10.7 g, 93.7 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 1.5 h, diluted with CH_2Cl_2 (100 mL) and washed with 2N HCl (100 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (50 mL) and the combined organic extracts washed with brine (75 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (9.7 g, 88%) as a yellow oil which was used without further purification.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4.76 (t, $J = 4$ Hz, 1H), 4.64 (t, $J = 4$ Hz, 1H), 4.52 (t, $J = 4$ Hz, 1H), 4.43 (t, $J = 4$ Hz, 1H), 3.09 (s, 3H).

(ii) 3-Chloro-5-monofluoroethoxybenzaldehyde

To a solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (8.2 g, 52.5 mmol; see Preparation A(ii) above) and potassium carbonate (9.4 g, 68.2 mmol) in DMF (10 mL) under nitrogen was added a solution of (2-monofluoroethyl) methanesulfonate (9.7 g, 68.2 mmol; see step (i) above) in DMF (120 mL) dropwise at room temperature. The mixture was heated to 100°C for 5 h and then stirred overnight at room temperature. The reaction was cooled to 0°C , poured into ice-cold 2N HCl and extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The brown oil was chromatographed on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) to afford the sub-title compound (7.6 g, 71%) as a yellow oil.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.92 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 4.87 (t, $J = 4$ Hz, 1H), 4.71 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 4.33 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 4.24 (t, $J = 3$ Hz, 1H).

(iii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})(R,S)\text{CH}(\text{OTMS})\text{CN}$

34/38

To a solution of 3-chloro-5-monofluoroethoxybenzaldehyde (7.6 g, 37.5 mmol; see step (ii) above) and zinc iodide (3.0 g, 9.38 mmol) in CH_2Cl_2 (310 mL) was added trimethylsilyl cyanide (7.4 g, 75.0 mmol) dropwise at 0°C under nitrogen. The mixture was stirred at 0°C for 3 h and at room temperature overnight. The reaction was diluted with H_2O (300 mL), the organic layer was separated, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (10.6 g, 94%) as a brown oil that was used without further purification or characterisation.

10 (iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$

Concentrated hydrochloric acid (100 mL) was added to $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})(R,S)\text{CH}(\text{OTMS})\text{CN}$ (10.6 g, 5.8 mmol; see step (iii) above) and the solution stirred at 100°C for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction was further cooled to 0°C , basified slowly with 3N NaOH (~300 mL) and washed with Et_2O (3 x 200 mL). The aqueous layer was acidified with 2N HCl (80 mL) and extracted with EtOAc (3 x 300 mL). The combined EtOAc extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (8.6 g, 98%) as a pale yellow solid that was used without further purification.

20 $R_f = 0.28$ (90:8:2 CHCl_3 :MeOH:concentrated NH_4OH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

25 (v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})(S)\text{CH}(\text{OAc})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (a) and $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})(R)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (b)

A solution of $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (8.6 g, 34.5 mmol; see step (iv) above) and Lipase PS "Amano" (4.0 g) in vinyl acetate (250 mL) and MTBE (250 mL) was heated at 70°C under nitrogen for 3 d. The reaction was cooled to room temperature and the enzyme removed by filtration through Celite®. The filter cake was washed with EtOAc and the filtrate concentrated *in*

239

vacuo. Chromatography on silica gel eluting with CHCl_3 :MeOH: Et_3N (90:8:2) afforded the triethylamine salt of sub-title compound (a) as a yellow oil. In addition, the triethylamine salt of sub-title compound (b) (4.0 g) was obtained. The salt of sub-title compound (b) was dissolved in H_2O (250 mL), acidified with 5 2N HCl and extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to yield the sub-title compound (b) (2.8 g, 32%) as a yellow oil.

Data for Sub-Title Compound (b):

10 $R_f = 0.28$ (90:8:2 CHCl_3 :MeOH:concentrated NH_4OH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

(vi) Compound C

15 To a solution of $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-}(R)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (818 mg, 3.29 mmol; see step (v) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was added Haze-Pab(OMe) $\cdot$ 2HCl (1.43 g, 4.27 mmol, see international patent application WO 00/42059), PyBOP (1.89 g, 3.68 mmol), and DIPEA (1.06 g, 8.23 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight.
20 The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed two times on silica gel, eluting first with CHCl_3 :EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the title compound (880 mg, 54%).

$R_f = 0.60$ (10:1 CHCl_3 :EtOH)

25 ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , complex mixture of rotamers) δ 7.58-7.60 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 2H), 6.95-6.99 (m, 1H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.99-4.51 (m, 7H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 173.3, 170.8,
30 152.5.

4/10

APCI-MS: $(M + 1) = 493$ m/z.

Preparation of Compound D (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab)
Compound D

- 5 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.045 g, 0.074 mmol; see Preparation A (ix) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 1 h. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.043 g (100%) of the sub-title compound as its TFA salt.
- 10 ¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotamers: δ 7.8-7.75 (m, 2H), 7.55-7.5 (m, 2H), 7.35 (m, 1H, major rotamer), 7.31 (m, 1H, minor rotamer), 7.19 (m, 1H, major rotamer), 7.15 (m, 1H), 7.12 (m, 1H, minor rotamer), 6.89 (t, 1H, major rotamer), 6.87 (t, 1H, minor rotamer), 5.22 (m, 1H, minor rotamer), 5.20 (s, 1H, major rotamer), 5.13 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m,
- 15 2H), 4.37 (m, 1H, major rotamer), 4.19 (m, 1H, major rotamer), 4.07 (m, 1H, minor rotamer), 3.98 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.55 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer)
- ¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.6, 172.5, 172.0, 171.7, 167.0
- 20 MS (m/z) 465 ($M - 1$)⁺, 467 ($M + 1$)⁺

Preparation of Compound E (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF))

Compound E

- 25 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81 mg, 0.127 mmol; see Preparation B (xii) above) was dissolved in 0.5 mL of methylene chloride and cooled on an ice bath. TFA (3 mL) was added and the reaction was left for 75 min. The TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water and acetonitrile. The crude product was purified by preparative RPLC with

41

CH₃CN:0.1M NH₄OAc (35:65) to produce 39 mg (55%) of the title compound as its HOAc salt, purity: 99%.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD mixture of rotamers) δ 7.5-7.4 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, major rotamer), 7.28 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 3H) 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.14 (m, 1H, minor rotamer), 5.07 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.65-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.16 (m, 1H, major rotamer), 4.03 (m, 1H, minor rotamer), 3.95 (m, 1H, minor rotamer), 2.63 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.21 (m, 1H, major rotamer), 2.07 (m, 1H, minor rotamer), 1.89 (s, 3H)

¹³C-NMR (75 MHz; CD₃OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 171.9, 171.2, 165.0, 162.8, 160.4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

15

Preparation of Compound F (Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab & TFA)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (940 mg, 3.78 mmol; see Preparation C (v) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(Teoc)·HCl (2.21 g, 4.91 mmol), PyBOP (2.16 g, 4.15 mmol), and DIPEA (1.22 g, 9.45 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for 4 h. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with CHCl₃:EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the sub-title compound (450 mg, 20%) as a crushable white foam.

25

Mp: 80-88°C

R_f = 0.60 (10:1 CHCl₃:EtOH)

4342

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, complex mixture of rotamers) δ 7.79 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 1H), 6.93-6.99 (m, 2H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.75-4.80 (m, 2H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.95-4.55 (m, 8H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

5 APCI-MS: (*M* + 1) = 607 *m/z*.

(ii) Compound F

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.357 g, 0.589 mmol; see step (i) above), was dissolved in 10 mL of TFA and allowed to react for 40
10 min. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.33 g (93%) of the title compound as its TFA salt.

¹H-NMR (600 MHz; CD₃OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (d, 2H), 7.08 (s, 1H, major rotamer), 7.04 (s, 1H, minor rotamer), 6.99 (s, 1H, major rotamer), 6.95
15 (s, 1H), 6.92 (s, 1H, minor rotamer), 5.18 (m, 1H, minor rotamer), 5.14 (s, 1H, major rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.73 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.35 (m, 1H, major rotamer), 4.21 (doublet of multiplets, 2H), 4.12 (m, 1H, major rotamer), 4.06 (m, 1H, minor rotamer), 3.99 (m, 1H, minor rotamer), 2.69 (m, 1H, minor rotamer), 2.53 (m, 1H,
20 major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer).

¹³C-NMR (150 MHz; CD₃OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.8, 172.1, 167.4.

ESI-MS+: (*M*+1) = 463 (*m/z*)

25 Preparation of Compound G (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH))

(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.148 g, 0.24 mmol; see Preparation A step (ix) above), was dissolved in 9 mL of acetonitrile and 0.101 g
30 (1.45 mmol) of hydroxylamine hydrochloride was added. The mixture was heated

43

at 70°C for 2.5 h, filtered through Celite® and evaporated. The crude product (0.145 g; 75% pure) was used directly in the next step without further purification.

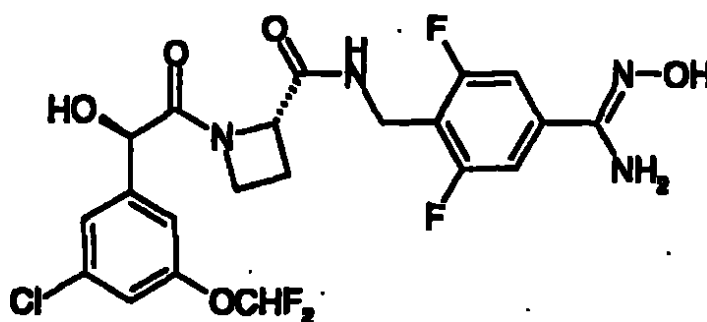
(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

- 5 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc) (0.145 g, 0.23 mmol; see step (i) above), was dissolved in 0.5 mL of CH₂Cl₂ and 9 mL of TFA. The reaction was allowed to proceed for 60 minutes. TFA was evaporated and the residue was purified using preparative HPLC. The fractions of interest were pooled and freeze-dried (2x), yielding 72 mg (yield over two steps 62%) of the
10 title compound.

MS (m/z) 482 (M - 1)⁺; 484 (M + 1)⁺

- ¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): δ 7.58 (d, 2H), 7.33 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.89 (t, 1H major rotamer), 6.86 (t, 1H minor rotamer), 5.18 (s, 1H major rotamer; and m, 1H minor rotamer), 5.12 (s, 1H minor rotamer), 4.77 (m, 1H major rotamer), 4.42 (m, 2H), 4.34 (m, 1H major rotamer), 4.14 (m, 1H major rotamer), 4.06 (m, 1H minor rotamer), 3.95 (m, 1H minor rotamer), 2.66 (m, 1H minor rotamer), 2.50 (m, 1H major rotamer), 2.27 (m, 1H major rotamer), 2.14 (m, 1H minor rotamer)
15 ¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ
20 172.4, 172.3, 172.0, 171.4 152.3, 152.1

Preparation of Compound H: Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)-Aze-Pab(2,6-diF(OH))



44

(i) Boc-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)

Boc-(S)Aze-OH (1.14 g, 5.6 mmol) was dissolved in 45 mL of DMF. 4-Aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (1.00 g, 5.95 mol, see Example 1(xiv) above), PyBOP (3.10 g, 5.95 mmol) and DIPEA (3.95 mL, 22.7 mmol) were added and the solution was stirred at room temperature for 2 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between H₂O and EtOAc (75 mL each). The aqueous phase was extracted with 2 x 50 mL EtOAc and the combined organic phase was washed with brine and dried over Na₂SO₄. Flash chromatography (SiO₂, EtOAc/heptane (3/1)) yielded the sub-title compound (1.52 g, 77%) as an oil which crystallized in the refrigerator.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): δ 7.19 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 3.86 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.39 (s, 9H)

(ii) H-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) x HCl

Boc-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0.707 g, 2.01 mmol, see step (i) above) was dissolved in 60 mL of EtOAc saturated with HCl(g). After stirring at room temperature for 15 minutes, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in CH₃CN/H₂O (1/1) and was freeze-dried to give the sub-title compound (0.567 g, 98%) as an off-white amorphous powder.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): δ 7.49 (m, 2H), 4.99 (m, 1H), 4.58 (m, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.47 (m, 1H)

MS (m/z) 252.0 (M + 1)⁺

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)

Ph(3-Cl)(5-OCF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0.40 g, 1.42 mmol, see Example 1(viii) above) was dissolved in 10 mL of DMF and H-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) x HCl (0.43 g, 1.50 mmol, see step (ii) above) and PyBOP (0.779 g, 1.50 mmol)

X 15

were added, followed by DIPEA (1.0 mL, 5.7 mmol). After stirring at room temperature for 2 h, the solvent was evaporated. The residue was partitioned between H₂O (200 mL) and EtOAc (75 mL). The aqueous phase was extracted with 2 x 75 mL EtOAc and the combined organic phase was washed with brine and dried over Na₂SO₄. Flash chromatography (SiO₂, EtOAc/heptane (4/1)) yielded the sub-title compound (0.56 g, 81%) as an oil.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotamers: δ 7.43 (m, 2H), 7.31 (m, 1H, major rotamer), 7.26 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.14 (s, 1H, major rotamer), 5.11 (m, 1H, minor rotamer), 5.04 (s, 1H, minor rotamer), 4.71 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.2-3.9 (m, 1H; and 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.21 (m, 1H, major rotamer), 2.09 (m, 1H, minor rotamer)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonyl carbons) δ 171.9, 171.8

MS (m/z) 484.0, 485.9 (M - 1)⁺, 486.0, 487.9 (M + 1)⁺

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OHC(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0.555 g, 1.14 mmol, from step (iii) above) was dissolved in 10 mL of EtOH (95%). To this solution was added hydroxylamine hydrochloride (0.238 g, 3.42 mmol) and Et₃N (0.48 mL, 3.44 mmol). After stirring at room temperature for 14 h, the solvent was removed and the residue was dissolved in EtOAc. The organic phase was washed with brine and H₂O and was dried over Na₂SO₄. The crude product was purified by preparative RPLC with CH₃CN:0.1 M NH₄OAc as eluent, yielding the title compound as an amorphous powder (0.429 g, 72%) after freeze-drying.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotamers: δ 7.35-7.1 (m, 5H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.85 (t, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.12 (m, 1H, minor rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4

46
77

42

(m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.12 (m, 1H, major rotamer), 4.04 (m, 1H, minor rotamer), 3.94 (m, 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.22 (m, 1H, major rotamer), 2.10 (m, 1H, minor rotamer)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonyl and amidine carbons, rotamers) δ 172.4,

5 171.9, 171.0, 152.3, 151.5 .

MS (m/z) 517.1, 519.0 (M - 1)⁺, 519.1, 521.0 (M + 1)⁺

Preparation of Compound J (Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH))

10 (i) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (see international patent application WO 97/02284, 92 mg, 0.197 mmol) was dissolved in 10 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and allowed to react for 10 min. The solvent was evaporated and the residue was mixed with Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.188 mmol; see

15 Preparation C (v) above), PyBOP (109 mg, 0.209 mmol) and finally diisopropylethyl amine (96 mg, 0.75 mmol) in 2 mL of DMF. The mixture was stirred for 2 h and then poured into 50 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with

20 EtOAc:MeOH (9:1). Yield: 100 mg (87%).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, mixture of rotamers) δ 7.85-7.75 (m, 2H), 7.45-7.25 (m, 7H), 7.11 (m, 1H, major rotamer), 7.08 (m, 1H, minor rotamer), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.13 (bt, 1H), 5.25-5.05 (m, 3H), 4.77 (m, 1H, partially hidden by the CD₃OH signal), 4.5-3.9 (m, 7H), 2.64 (m, 1H, minor rotamer), 2.47 (m, 1H, major rotamer), 2.25 (m, 1H, major rotamer), 2.13 (m, 1H, minor rotamer)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Hydroxylamine hydrochloride (65 mg, 0.94 mmol) and triethylamine (0.319 g, 3.16 mmol) were mixed in 8 mL of THF and sonicated for 1 h at 40°C. Ph(3-

30

47

Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0.156 mmol; see step (i) above) was added with 8 mL more of THF. The mixture was stirred at 40°C for 4.5 days. The solvent was evaporated and the crude product was purified by preparative RPLC with CH₃CN:0.1M NH₄OAc (40:60). Yield: 30 mg (38%).

5 Purity: 99%.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, mixture of rotamers) δ 7.6-7.55 (m, 2H), 7.35-7.3 (m, 2H), 7.12 (m, 1H, major rotamer), 7.09 (m, 1H, minor rotamer), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.15 (triplet of multiplets, 1H), 5.15 (m, 1H, minor rotamer), 5.13 (s, 1H, major rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.77 (m, 1H, major rotamer), 4.5-4.2 (m, 5H), 4.08 (m, 1H, major rotamer), 3.97 (m, 1H, minor rotamer), 2.66 (m, 1H, minor rotamer), 2.50 (m, 1H major rotamer), 2.27 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 172.8, 172.2, 171.4, 159.1, 158.9, 154.2.

15 APCI-MS: (M + 1) = 497/499 m/z

Methods 1 and 2 : Preparation of Salts of Compound A

Method 1 : General Method for Salt Preparation

20 The following generic method was employed to prepare salts of Compound A: 200 mg of Compound A (see Preparation A above) was dissolved in 5 mL of MeOH. To this solution was added a solution of the relevant acid (1.0 molar equivalent) dissolved in 5 mL of MeOH. After stirring for 10 minutes at room temperature, the solvent was removed by way of a rotary evaporator. The remaining solid material was re-dissolved in 8 mL of
25 acetonitrile:H₂O (1:1). Freeze-drying afforded colorless amorphous material in each case.

Acids employed:

(1S)-(+)-10-camphorsulfonic

malic

30 cyclohexylsulphamic

47/48

phosphoric

dimethylphosphoric

p-toluenesulphonic

L-lysine

5 L-lysine hydrochloride

saccharinic

methanesulphonic

hydrochloric

10 Appropriate characterising data are shown in Table 1.

Table 1

Salt	Mw acid	Mw salt	LRMS	δ ppm (MeOD) H18, H19, H24 (see structure at end of Method 9 below)
(1S)-(+)-10-camphor-sulfonate	232.20	729.20	230.9 495.1 497.0 727.3	7.57, 7.68, 3.97
maleate	116.07	612.97	114.8 495.1 497.0	7.45, 7.64, 3.89
cyclohexylsulphamate	179.24	676.14	177.9 495.1 496.9 674.3 676.1	7.44, 7.64, 3.89
phosphate	97.99	594.89	495.1	7.37, 7.61, 3.84

			497.0 593.1	
dimethylphosphate	126.05	622.95	124.9 495.1 497.0 621.2 623.0	7.50, 7.66, 3.92
p-toluenesulphonate	172.20	669.10	170.9 495.1 497.0	7.54, 7.71, 3.95
L-lysine	146.19	643.09	145.0 495.1 497.0	7.36, 7.60, 3.83
L-lysine hydrochloride	182.65	679.55	495.1 497.0 531.1 (HC	7.36, 7.60, 3.83
saccharinate	183.19	680.09	181.9 495.1 497.0	7.44, 7.64, 3.89
methanesulphonate	96.11	593.01	495.1 497.0 591.2 593.1	7.57, 7.68, 3.97
hydrochloride	36.46	533.36	495.1 496.9 531.1 532.5 535.2	7.55, 7.67, 3.95

All salts formed in this Method were amorphous.

50

Method 2

Further amorphous salts of Compound A were made using analogous techniques to those described in Method 1 above from the following acids:

- 5 hydrobromic acid (1:1 salt)
- hydrochloric acid (1:1 salt)
- sulphuric acid (1:0.5 salt)
- 1,2-ethanedithiolic acid (1:0.5 salt)
- 1S-camphorsulfonic acid (1:1 salt)
- 10 (+/-)-camphorsulfonic acid (1:1 salt)
- ethanesulfonic acid (1:1 salt)
- nitric acid (1:1 salt)
- toluenesulfonic acid (1:1 salt)
- methanesulfonic acid (1:1 salt)
- 15 p-xylenesulfonic acid (1:1 salt)
- 2-mesitylenesulfonic acid (1:1 salt)
- 1,5-naphthalenesulfonic acid (1:0.5 salt)
- naphthalenesulfonic acid (1:1 salt)
- benzenesulfonic acid (1:1 salt)
- 20 saccharinic acid (1:1 salt)
- maleic acid (1:1 salt)
- phosphoric acid (1:1 salt)
- D-glutamic acid (1:1 salt)
- L-glutamic acid (1:1 salt)
- 25 D,L-glutamic acid (1:1 salt)
- L-arginine (1:1 salt)
- L-lysine (1:1 salt)
- L-lysine hydrochloride (1:1 salt)
- glycine (1:1 salt)
- 30 salicylic acid (1:1 salt)

51

tartaric acid (1:1 salt)

fumaric acid (1:1 salt)

citric acid (1:1 salt)

L-(-)-malic acid (1:1 salt)

5 D,L-malic acid (1:1 salt)

D-gluconic acid (1:1 salt)

Method 3 : Preparation of Amorphous Compound A, ethanesulfonic acid salt

Compound A (203 mg; see Preparation A above) was dissolved in ethanol (3 mL) and
10 ethanesulfonic acid (1 eq., 95%, 35 μ L) was added to the solution. The mixture was stirred
for a few minutes, and then the solvent was evaporated. The resulting oil was slurried in
iso-octane and evaporated to dryness until a solid material was obtained. Finally, the
substance was re-slurried in *iso*-octane and the solvent evaporated again resulting in a
white, dry, amorphous solid. The substance was vacuum dried at 40°C overnight.

15

Methods 4 to 9 : Preparation of Crystalline Compound A, ethanesulfonic acid salt

Method 4 : Crystallisation of Amorphous Material

Amorphous Compound A, ethanesulfonic acid salt (17.8 mg; see Method 3 above) was
slurried in methyl *iso*-butyl ketone (600 μ L). After 1 week, crystalline needles were
20 observed, which were filtered off and air-dried.

Methods 5 to 7 : Reaction Crystallisations (without Anti-solvent)

Method 5

Compound A (277 mg; see Preparation A above) was dissolved in methyl *iso*-butyl ketone
25 (3.1 mL). Ethanesulfonic acid was added (1 eq., 95%, 48 μ L). Precipitation of amorphous
ethanesulfonate salt occurred immediately. More methyl *iso*-butyl ketone (6 mL) was
added and the slurry was treated with ultrasound. Finally, a third portion of methyl *iso*-
butyl ketone (3.6 mL) was added and then the slurry was left overnight with stirring
(magnetic stirrer). The next day, the substance had transformed into crystalline needles.
30 The slurry was filtered off, washed with methyl *iso*-butyl ketone (0.5 mL) and air dried.

52

Method 6

Compound A (236 mg; see Preparation A above) was dissolved at room temperature in methyl *iso*-butyl ketone (7 mL). Ethanesulfonic acid (1 eq., 41 μ L) was mixed with 2 mL of methyl *iso*-butyl ketone in a vial. The solution of Compound A was seeded with crystalline Compound A, ethanesulfonic acid salt (see Methods 4 and 5 above). Then, 250 μ L of the methyl *iso*-butyl ketone solution of ethanesulfonic acid was added in portions over 45 minutes. The solution was seeded again, and the temperature was increased to 30°C. Then, 500 μ L of the methyl *iso*-butyl ketone solution was added over approximately 1 hour. The resulting slurry was left overnight before a final amount of the methyl *iso*-butyl ketone/acid solution was added over 20 minutes. The vial was rinsed with 1.5 mL of methyl *iso*-butyl ketone, which was added to the slurry. After a further 6 hours, the crystals were filtered off, washed with methyl *iso*-butyl ketone (2 mL) and dried under reduced pressure at 40°C. A total of 258 mg of crystalline salt was obtained which corresponds to a yield of approximately 87%.

Method 7

Compound A (2.36 g; see Preparation A above) was dissolved in methyl *iso*-butyl ketone (90 mL). Seed crystals (10 mg) of Compound A, ethanesulfonic acid salt (see Methods 4 to 6 above) were added to the solution, and then ethanesulfonic acid (40 TL) was added in two portions. Further seed crystals (12 mg) and two portions of ethanesulfonic acid (2 x 20 μ L) were then added. The slurry was diluted with methyl *iso*-butyl ketone (15 mL) before the addition of ethanesulfonic acid was continued. A total amount of 330 μ L ethanesulfonic acid was added, in portions, over 1 hour. A small amount of seed crystals was added and, finally, the slurry was left overnight with stirring. The next day, the crystals were filtered off, washed with methyl *iso*-butyl ketone (2 x 6 mL) and dried under reduced pressure at 40°C. After drying, a total of 2.57 g of white, crystalline product was obtained corresponding to a yield of 89%.

12X53

Methods 8 and 9 : Reaction Crystallizations (with Anti-solvent)**Method 8**

Compound A (163 mg; see Preparation A above) was dissolved in *iso*-propanol (1.2 mL). The solution was heated to 35°C. Ethanesulfonic acid was added (28 µL). Then, ethyl acetate (4.8 mL) was added and the solution was seeded with crystalline Compound A, ethanesulphonic acid salt (see Methods 4 to 7 above). Crystallization started almost immediately. The slurry was left for about 80 minutes at 35°C before being allowed to cool to ambient temperature (21°C). Two hours later, the crystals were filtered off, washed three times with ethyl acetate (3 x 0.4 mL), and dried under reduced pressure at 40°C. A total of 170 mg of crystalline title product was obtained which corresponds to a yield of approximately 82%.

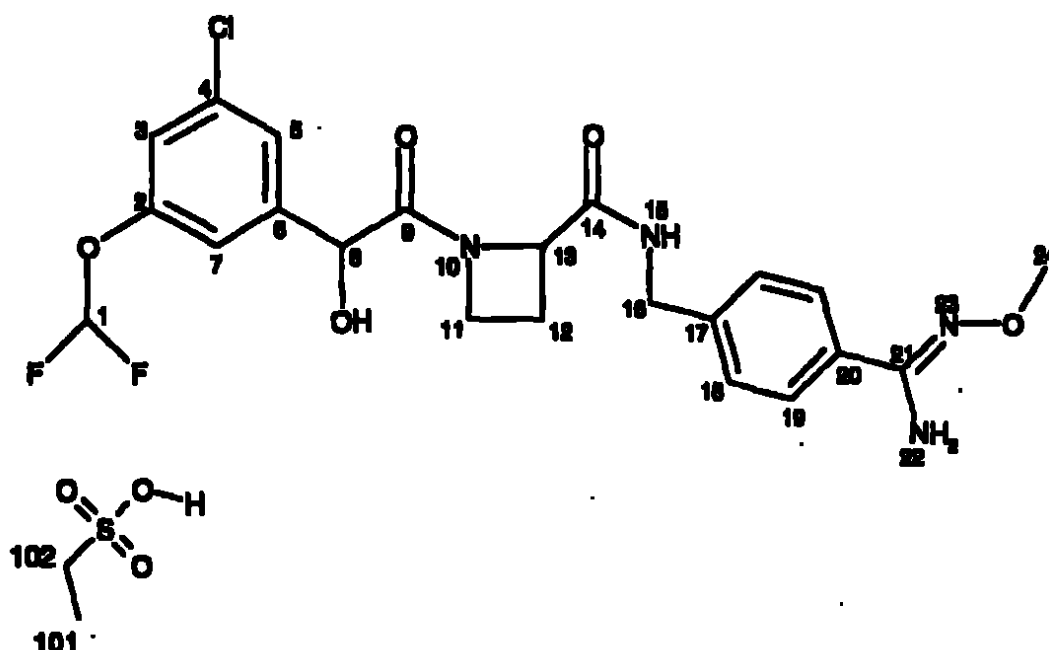
Method 9

Compound A (20.0 g; see Preparation A above) was dissolved in *iso*-propanol (146.6 mL) at 40°C and ethanesulfonic acid (3.46 mL, 95%, 1 eq.) was added to the solution. To the resulting clear solution, seed crystals of Compound A, ethanesulfonic acid salt were added (50 mg; see Methods 4 to 8 above). Then, ethyl acetate (234 mL) was added over 10 minutes. The resulting slightly opaque solution was seeded once more (70 mg) and left for one hour at 40°C with stirring to allow for crystallization to start. After this, a total of 352 mL of ethyl acetate was added at a constant rate over one hour. When all of the ethyl acetate had been added, the slurry was left for 1 hour, before being cooled to 21°C over 2 hours. The crystallization was allowed to continue for 1 hour at 21°C before the crystals were filtered off, washed twice with ethyl acetate (50 mL + 60 mL) and finally, dried under reduced pressure at 40°C overnight. A total of 21.6 g of a white, crystalline salt was obtained, corresponding to a yield of approximately 90%.

54

Compound A, ethanesulfonic acid salt was characterised by NMR as follows: 23 mg of the salt was dissolved in deuterated methanol (0.7 mL) for spectroscopy. A combination of 1D (^1H , ^{13}C and selective NOE) and 2D (gCOSY, gHSQC and gHMBC) NMR experiments were used. All data were in good agreement with the theoretical structure of the salt, shown below. The molecule exists in two conformations in methanol. Based on the integral of the peak assigned to H5 (dominant conformer) and peak assigned to H5' (other conformer), the ratio between the two conformers was found to be 70:30. H22 could not be observed as these protons were in fast exchange with the solvent CD_3OD .

10



Both the proton and the carbon resonance corresponding to position 1 are split due to the spin-coupling with the two fluorine nuclei in that position. The coupling constants are $^2J_{\text{HF}}=73$ Hz and $^1J_{\text{CF}}=263$ Hz.

^1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment and proton-proton correlations are shown in Table 2.

A055

Table 2

Atom No.	Type	¹³ C shift/ppm ^a	¹ H shift/ppm ^b and multiplicity ^c	J _{HH} /Hz
1	CH	117.5 ^a	6.90 (t)	73 (² J _{HP})
1'		117.5 ^a	6.88 (t)	
2	C	153.5		
2'		153.5		
3	CH	120.0	7.15 (s)	
3'		119.7	7.13 (s)	
4	C	136.2		
4'		135.9		
5	CH	125.0	7.36 (s)	
5'		124.9	7.31 (s)	
6	C	144.5		
6'		145.3		
7	CH	117.3	7.20 (s)	
7'		117.2	7.15 (s)	
8	CH	72.0	5.20 (s)	
8'		74.0	5.12 (s)	
9	CO	173.1		
9'		173.8		
11	CH ₂	51.6	a:4.38 (m) b:4.21 (m)	
11'		49.0	a:4.06 (m) b:3.99 (m)	
12	CH ₂	21.7	a:2.55 (m) b:2.29 (m)	
12'		23.2	a:2.70 (m)	

56

			b:2.15 (m)	
13	CH	63.1	4.80 (m)	
13'		66.2	5.22 (m)	
14	CO	172.9		
14'		173.6		
15	NH		8.76 (t, br)	5.2
15'			8.79 (t, br)	5.2
16	CH ₂	43.5	4.59 (AB-pattern)	15.9
			4.46 (AB-pattern)	15.9
16'		43.6	4.53 (AB-pattern)	15.9
			4.49 (AB-pattern)	15.9
17	C	146.9		
17'		147.0		
18	CH	129.1	7.56 (d)	7.8
18'		129.1	7.57 (d)	7.8
19	CH	129.2	7.67 (d)	7.8
19'		129.4	7.70 (d)	7.8
20	C	124.9	-	
20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.3		
22	NH ₂		Not observed	
24	CH ₃	64.8	3.96 (s)	
101	CH ₃		1.28 (t)	7.4
102	CH ₂		2.77 (m)	7.4

^aRelative to the solvent resonance at 49.0 ppm.

^bRelative to the solvent resonance at 3.30 ppm.

^cs=singlet, t=triplet, m=multiplet, br=broad, d=doublet

257

^dObtained in the gCOSY experiment.

^eThe resonance is a triplet due to coupling with the two fluorine nuclei. ¹J_{CF}=263 Hz.

- 5 HRMS calculated for C₂₄H₂₅ClF₂N₄O₆S (M-H)⁻ 605.1284, found 605.1296.

Crystals of Compound A, ethanesulfonic acid salt (obtained by way of one or more of Examples 4 to 9 above) were analyzed by XRPD and the results are tabulated below (Table 3) and are shown in Figure 1.

10

Table 3

d value (Å)	Intensity (%)	Intensity
16.5	10	m
12.2	74	vs
11.0	4	w
9.0	33	s
8.3	3	vw
7.6	6	w
6.4	4	w
6.2	12	m
6.0	7	m
5.9	10	m
5.5	15	m
5.4	100	vs
5.1	7	m
4.66	29	s
4.60	36	s
4.31	57	s
4.25	18	m

4.19	20	m
4.13	12	m
4.00	12	m
3.87	13	m
3.83	6	w
3.76	7	m
3.72	6	w
3.57	9	m
3.51	7	m
3.47	5	w
3.39	3	vw
3.31	11	m
3.26	10	m
3.21	8	m
3.16	4	w
3.03	8	m
2.78	4	w
2.74	5	w
2.67	3	vw
2.56	5	w
2.50	5	w
2.46	7	m
2.34	4	w
2.21	5	w
2.00	3	vw
1.98	3	vw

DSC showed an endotherm with an extrapolated melting onset temperature of ca. 131°C. TGA showed a decrease in mass of ca. 0.2% (w/w) around the melting

6059

point. DSC analysis repeated with a sample of lower solvent content showed a melting onset temperature of ca. 144°C.

Method 10

5 Preparation of Amorphous Compound A, benzenesulfonic acid salt

Compound A (199 mg; see Preparation A above) was dissolved in ethanol (2 mL). Benzenesulfonic acid (1 eq. 90%, 70mg) was dissolved in ethanol (1 mL) in a vial. The ethanol solution of the acid was added to the solution of Compound A and the vial was rinsed with 1 mL ethanol, which was then added to the mixture. The mixture was stirred
10 for a few minutes, and then the ethanol was evaporated until an oil was formed. Ethyl acetate (3 mL) was added and the solvent was evaporated again to dryness. An amorphous solid was formed.

Methods 11 to 13 : Preparation of Crystalline Compound A, benzenesulfonic acid salt

15 Method 11 : Crystallisation of Amorphous Material

Amorphous Compound A benzenesulfonic acid salt (20.7 mg; see Method 10 above) was slurried in ethyl acetate (600 TL). After 5 days, crystalline needles were observed in the slurry.

20 Methods 12 and 13 : Reaction Crystallisations

Method 12

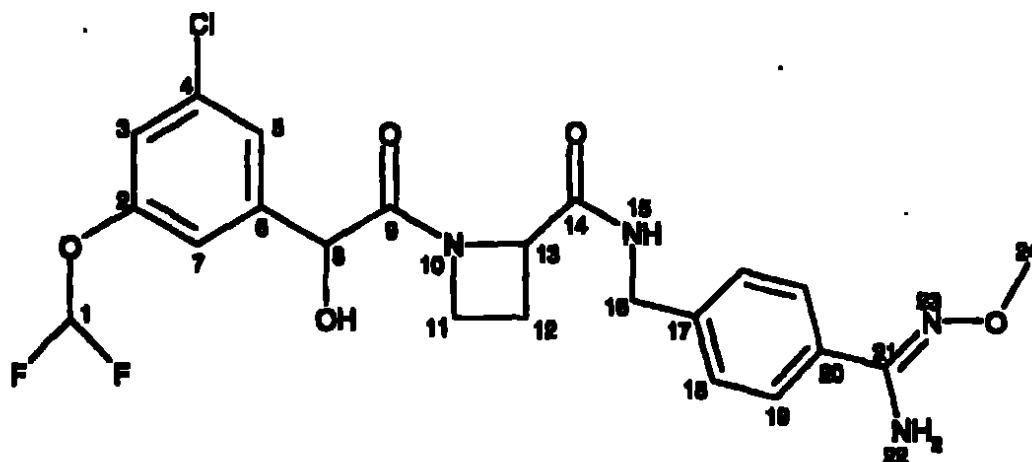
Compound A (128 mg; see Preparation A above) was dissolved in ethyl acetate (3 mL). The solution was seeded with the slurry from Method 11 above. Then, benzenesulfonic acid was added (1 eq., 90%, 45 mg). Precipitation of benzenesulphonic acid salt occurred
25 immediately. *iso*-Propanol was added to the slurry (0.8 mL) and the mixture was seeded again. Two days later, the substance had transformed into crystalline needles. The slurry was filtered off, washed with ethyl acetate (3 x 0.2 mL) and dried for a short time under vacuum at 40°C. A total of approximately 140 mg of white solid was obtained.

60

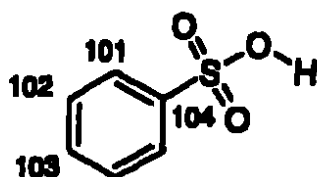
Method 13

Compound A (246 mg; see Preparation A above) was dissolved in *iso*-propanol (1.52 mL). Benzenesulfonic acid was added (88 mg, 90%). To the clear solution, ethyl acetate was added (3 mL), and then the mixture was seeded to initiate crystallisation. After 1 hour, more ethyl acetate was added (2.77 mL). Finally, the slurry was allowed to crystallise overnight before the crystals were filtered off, washed with ethyl acetate (3 x 0.3 mL) and dried at 40°C under vacuum. A total of 279 mg salt was obtained which corresponds to a yield of approximately 86%.

Compound A, benzenesulfonic acid salt was characterised by NMR as follows: 20 mg of the salt was dissolved in deuterated methanol (0.7 mL). A combination of 1D (¹H, ¹³C and selective NOE) and 2D (gCOSY, gHSQC and gHMBC) NMR experiments were used. All data were in good agreement with the theoretical structure of the salt, shown below. The molecule exists in two conformations in methanol. Based on the integral of the peak assigned to H12 (dominant conformer) and peak assigned to H12' (other conformer), the ratio between the two conformers was found to be 70:30. H22 could not be observed as these protons were in fast exchange with the solvent CD₃OD.



62



Both the proton and the carbon resonance corresponding to position 1 are split due to the spin-coupling with the two fluorine nuclei in that position. The coupling constants are $^2J_{HF}=74$ Hz and $^1J_{CF}=260$ Hz.

1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment and proton-proton correlations are shown in Table 4.

10 **Table 4**

Atom No.	Type	^{13}C shift/ppm ^a	1H shift/ppm ^b and multiplicity ^c	J_{HF} /Hz
1	CH	117.5 ^a	6.89 (t)	74 ($^2J_{HF}$)
1'		117.5 ^c	6.87 (t)	
2	C	153.5		
2'		153.5		
3	CH	120.1	7.15 (s)	
3'		119.7	7.12 (s)	
4	C	136.2		
4'		135.9		
5	CH	125.1	7.35 (s)	
5'		124.9	7.31 (s)	
6	C	144.5		
6'		145.3		
7	CH	117.3	7.20 (s)	
7'		117.2	7.14 (s)	

62

8	CH	72.8	5.20 (s)	
8'		74.0	5.12 (s)	
9	CO	173.1		
9'		173.8		
11	CH ₂	51.6	a:4.37 (m) b:4.20 (m)	
11'		49.0	a:4.05 (m) b:3.98 (m)	
12	CH ₂	21.7	a:2.53 (m) b:2.28 (m)	
12'		23.2	a:2.69 (m) b:2.14 (m)	
13	CH	63.1	4.79 (m)	
13'		66.2	5.22 (m)	
14	CO	172.9		
14'		173.6		
15	NH		8.75 (t, br)	5.3
15'			8.78 (t, br)	5.3
16	CH ₂	43.5	4.59 (AB-pattern) 4.44 (AB-pattern)	16.0 and 5.2 16.0 and 4.8
16'		43.6	4.51 (AB-pattern) 4.46 (AB-pattern)	16.0 16.0
17	C	146.9		
17'		147.0		
18	CH	129.2	7.54 (d)	8.3
18'		129.2	7.56 (d)	8.3
19	CH	129.3	7.66 (d)	8.3
19'		129.4	7.69 (d)	8.3
20	C	124.9	-	

63

20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.4		
22	NH ₂		Not observed	
24	CH ₃	64.8	3.95 (s)	
101	CH	126.9	7.81 (m)	
102	CH	129.1	7.41 (m)	
103	CH	131.2	7.42 (m)	
104	C	146.4		

^aRelative to the solvent resonance at 49.0 ppm.

^bRelative to the solvent resonance at 3.30 ppm.

^cs=singlet, t=triplet, m=multiplet, br=broad, d=doublet.

5 ^dObtained in the gCOSY experiment.

^eThe resonance is a triplet due to coupling with the two fluorine nuclei. ¹J_{CF}=260 Hz.

^fconnectivity difficult to determine due to overlap between resonance 102 and 103

10 HRMS calculated for C₂₂H₂₉ClF₂N₄O₃S (M-H)⁻ 653.1284, found 653.1312.

Crystals of Compound A, benzenesulfonic acid salt (obtained by way of one or more of Examples 11 to 13 above) were analyzed by XRPD and the results are tabulated below (Table 5) and are shown in Figure 2.

15

Table 5

d value (Å)	Intensity (%)	Intensity
14.2	12	m
12.6	55	s

64
6

10.2	49	s
7.5	8	m
6.4	5	w
6.3	30	s
6.1	5	w
5.9	100	vs
5.7	20	m
5.4	9	m
5.3	11	m
5.1	10	m
4.96	3	vw
4.83	27	s
4.73	72	vs
4.54	23	s
4.50	10	m
4.35	28	s
4.30	38	s
4.24	24	s
4.17	28	s
4.09	60	vs
4.08	61	vs
3.96	29	s
3.91	15	m
3.77	22	s
3.62	11	m
3.52	20	m
3.31	44	s
3.19	8	m
3.15	11	m

65

3.09	8	m
3.00	7	m
2.89	3	vw
2.86	4	w
2.79	7	m
2.76	6	w
2.72	5	w
2.59	6	w
2.56	9	m
2.54	9	m
2.49	7	m
2.38	8	m
2.16	4	w
2.03	3	vw

DSC showed an endotherm with an extrapolated melting onset temperature of ca. 152°C. TGA showed a decrease in mass of ca. 0.1% (w/w) around the melting point.

5

Method 14

Preparation of Amorphous Compound A, *n*-propanesulfonic acid salt

Compound A (186 mg; see Preparation A above) was dissolved in *iso*-propanol (1.39 mL) and *n*-propanesulfonic acid (1 eq., 95%, 39 TL) was added. Ethyl acetate (5.6 mL) was added and the solvent was evaporated until a dry, amorphous solid was formed.

10

Methods 15 and 16 : Preparation of Crystalline Compound A, *n*-propanesulfonic acid salt

Method 15 : Crystallisation of Amorphous Material

2/66

Amorphous Compound A, *n*-propanesulfonic acid salt (20 mg; see Method 14 above) was dissolved in *iso*-propanol (60 TL) and *iso*-propyl acetate (180 TL) was added. After three days crystalline needles were observed.

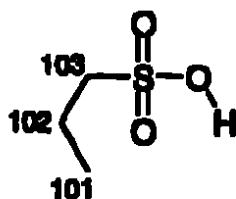
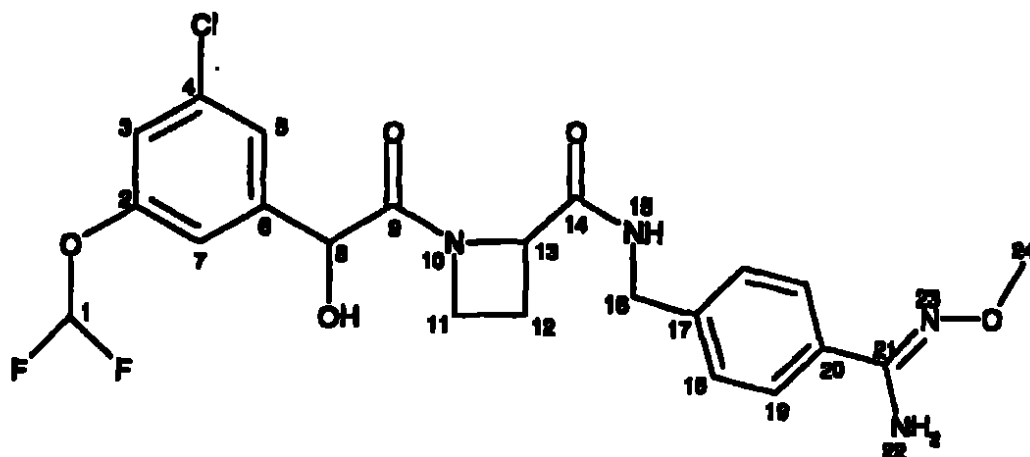
5 **Method 16 : Reaction Crystallisation**

Compound A (229 mg; see Preparation A above) was dissolved in *iso*-propanol (1.43 mL). *n*-Propanesulfonic acid was added (1 eq., 95%, 48 TL). Ethyl acetate was added (2 mL), and then the solution was seeded with crystalline salt from Method 15 above. Further ethyl acetate was added (5 mL) and the slurry was left overnight to crystallize. The crystals were
10 filtered off, washed with ethyl acetate (3 x 0.3 mL) and dried under vacuum at 40°C.

Compound A, *n*-propanesulfonic acid salt was characterized by NMR as follows:
13 mg of the salt was dissolved in deuterated methanol (0.7 mL) for NMR spectroscopy. A combination of 1D (¹H, ¹³C) and 2D (gCOSY) NMR experiments were used. All
15 data were in good agreement with the theoretical structure of the salt, shown below. The molecule exists in two conformations in methanol. Based on the integral of the peak assigned to H12 (dominant conformer) and peak assigned to H12' (other conformer), the ratio between the two conformers was found to be 65:35. H22 could not be observed as these protons were in fast exchange with the
20 solvent CD₃OD.

67

63



Both the proton and the carbon resonance corresponding to position 1 are split due to the spin-coupling with the two fluorine nuclei in that position. The coupling constants are $^2J_{HF}=74$ Hz and $^1J_{CF}=260$ Hz.

1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment and proton-proton correlations are shown in Table 6.

10

Table 6

Atom No.	Type	^{13}C shift/ppm ^a	1H shift/ppm ^b and multiplicity ^c	J_{HF} /Hz
1	CH	117.5 ^a	6.89 (t)	74 ($^2J_{HF}$)
1'		117.5 ^a	6.88 (t)	
2	C	153.5		
2'		153.5		
3	CH	120.0	7.16 (s)	

6468

3'		119.7	7.13 (s)	
4	C	136.2		
4'		135.9		
5	CH	125.1	7.36 (s)	
5'		124.9	7.31 (s)	
6	C	144.5		
6'		145.3		
7	CH	117.3	7.20 (s)	
7'		117.2	7.16 (s)	
8	CH	72.9	5.20 (s)	
8'		74.1	5.12 (s)	
9	CO	173.1		
9'		173.8		
11	CH ₂	51.6	a:4.37 (m) b:4.20 (m)	
11'		49.0	a:4.06 (m) b:3.98 (m)	
12	CH ₂	21.7	a:2.53 (m) b:2.29 (m)	
12'		23.2	a:2.69 (m) b:2.15 (m)	
13	CH	63.1	4.80 (m)	
13'		66.2	5.22 (m)	
14	CO	172.9		
14'		173.8		
15	NH		8.75 (t, br)	5.5
15'			8.79 (t, br)	5.5
16	CH ₂	43.5	4.59 (AB-pattern) 4.45 (AB-pattern)	16.0 and 6.6 16.0 and 5.3

69

65

16'		43.6	4.51 4.50	
17	C	146.9		
17'		147.0		
18	CH	129.1	7.54 (d)	8.5
18'		129.2	7.57 (d)	8.5
19	CH	129.2	7.67 (d)	8.5
19'		129.4	7.69 (d)	8.5
20	C	124.9	-	
20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.4		
22	NH ₂		Not observed	
24	CH ₃	64.7	3.96 (s)	
101	CH	13.7	1.0 (t)	
102	CH	19.6	1.78 (m)	
103	CH	54.6	2.75 (m)	

^aRelative to the solvent resonance at 49.0 ppm.

^bRelative to the solvent resonance at 3.30 ppm.

^cs=singlet, t=triplet, m=multiplet, br=broad, d=doublet.

5 ^dObtained in the gCOSY experiment.

^eThe resonance is a triplet due to coupling with the two fluorine nuclei. ¹J_{CF}=260 Hz.

HRMS calculated for C₂₅H₃₁ClF₂N₄O₃S (M-H)⁺ 619.1441, found 619.1436.

70

Crystals of Compound A, *n*-propanesulfonic acid salt (obtained by way of one or more of Examples 15 and 16 above) were analyzed by XRPD and the results are tabulated below (Table 7) and are shown in Figure 3.

5 **Table 7**

d value (Å)	Intensity (%)	Intensity
14.0	4	w
12.4	87	vs
10.0	30	s
8.0	3	vw
7.5	7	m
7.0	0.6	vw
6.7	1	vw
6.4	1	vw
6.2	12	m
6.1	3	vw
5.8	100	vs
5.7	11	m
5.5	3	vw
5.4	5	w
5.3	5	w
5.2	2	vw
5.1	3	vw
4.94	3	vw
4.78	21	s
4.68	42	s
4.51	10	m
4.49	7	m
4.40	5	w

271

4.32	10	m
4.29	10	m
4.25	22	s
4.19	14	m
4.14	15	m
4.07	23	s
4.04	20	m
3.94	16	m
3.88	10	m
3.73	15	m
3.65	2	vw
3.59	3	vw
3.48	18	m
3.28	23	m
3.12	4	w
3.06	3	vw
2.97	6	w
2.84	2	vw
2.81	3	vw
2.76	2	vw
2.73	3	vw
2.70	2	vw
2.57	2	vw
2.54	6	w
2.51	6	w
2.46	8	m
2.42	2	vw
2.39	3	vw
2.36	3	vw

472

68

2.32	2	vw
2.14	3	vw
2.01	2	vw

DSC showed an endotherm with an extrapolated melting onset temperature of ca. 135°C. TGA showed no decrease in mass around the melting point.

5 Method 17

Method 17-A : Preparation of amorphous Compound A n-butane sulfonic acid salt

Amorphous Compound A (277 mg) was dissolved in IPA (1.77 ml) and butane sulfonic acid (approx. 1 eq. 70 µL) was added. Ethyl acetate (6 ml) was added and the solvent was evaporated until dry, amorphous solid was formed.

10

Method 17-B : Preparation of crystalline Compound A butane sulfonic acid salt

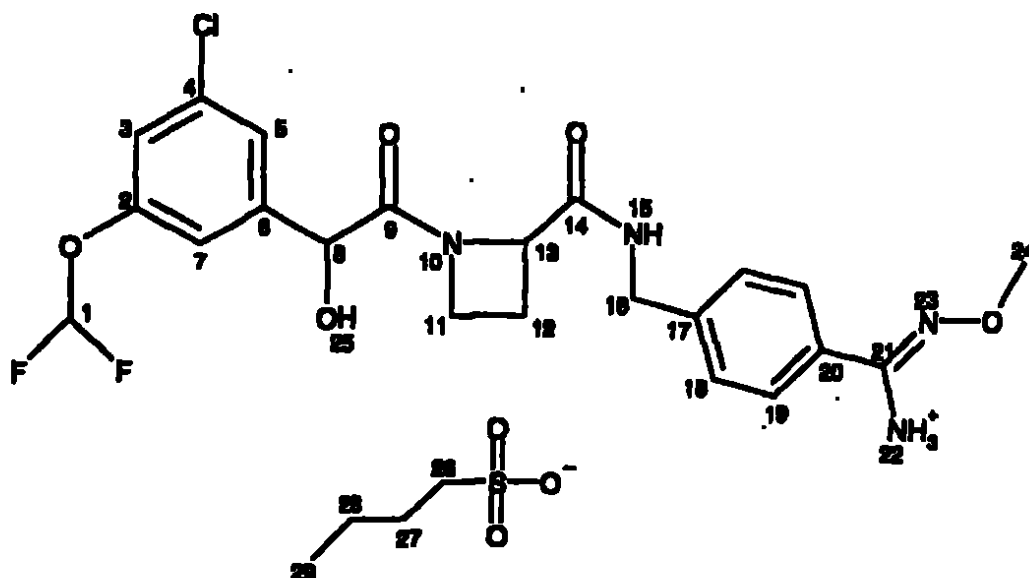
Amorphous Compound A butane sulfonic acid salt (71.5 mg; see preparation above) was slurried in ethyl acetate (500 µl) over night. The crystals were filtered off and were air-dried.

15

Compound A, butanesulfonic acid salt was characterized by NMR as follows:
21.6 mg of the salt was dissolved in deuterated dimethylsulfoxide (0.7 ml) and was investigated with ¹H and ¹³C NMR spectroscopy.

20 The spectra are very similar to other salts of the same compound and in good agreement with the structure shown below. Most resonances in the spectra are present as sets of two peaks due to the slow rotation around the C9-N10 bond, which results in two atropisomers that simultaneously exist in the solution. This is shown for other salts of the same compound.

73



The two fluorine nuclei in position 1 give rise to split resonances for the proton and the carbon in that position. The coupling constants are $^2J_{HF}=73$ Hz and $^1J_{CF}=258$ Hz.

Chemical shifts for protons and carbons are presented in Table 1. Protons in position 22 and 24 are not detected due to chemical exchange. There is a very broad hump between 8 and 9 ppm in the proton spectrum corresponding to these protons.

Table 1

1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment of Compound A n-butanesulfonate salt in deuterated dimethylsulfoxide at 25°C

Atom No.	Type	^{13}C shift/ppm ^a	1H shift/ppm ^b and multiplicity ^c	J_{HF} /Hz
1	CHF	116.3 ^d	7.29 (t)	73 ($^2J_{HF}$)
1'	2	116.3 ^d	7.28 (t)	73 ($^2J_{HF}$)
2	C	151.5	na	na

2'		151.3	na	na
3	CH	118.0	7.25 (t) ^a	nd
3'		117.6	7.21 (t) ^a	nd
4	C	133.8	na	na
4'		133.4	na	na
5	CH	123.8	7.34 (t) ^a	nd
5'		123.6	7.25 (t) ^a	nd
6	C	144.5	na	na
6'		145.2	na	na
7	CH	116.3	7.19 (t) ^a	nd
7'		116.1	7.12 (t) ^a	nd
8	CH	70.9	5.13 (s)	na
8'		71.2	4.99 (s)	na
9	CO	170.6	na	na
9'		171.1	na	na
11	CH ₂	50.0	a:4.24 (m) b:4.12 (m)	nd
11'		46.9	3.85 (m)	nd
12	CH ₂	20.5	a:2.41 (m) b:2.10 (m)	nd
12'		21.7	a:2.60 (m) b:2.02 (m)	nd
13	CH	61.2	4.65 (dd)	5.6 and 8.9
13'		63.9	5.12 (m)	nd
14	CO	170.2	na	na
14'		171.0	na	na
16	CH ₂	41.8	4.38 (m)	nd
16'		42.0	4.38 (m)	nd
17	C	144.7	na	na
18	CH	127.5	7.44 (d)	8.2
		127.6	7.44	nd
19	CH	127.8	7.66 (d)	8.2

75
~~70~~

20	C	125.1	na	na
21	C	157.9	na	na
24	CH ₃	63.3	3.83 (s)	na
24'		63.3	3.82 (s)	na
26	CH ₂	51.4	2.41 (m)	nd
27	CH ₂	27.3	1.52 (m)	nd
28	CH ₂	21.7	1.30 (m)	nd
29	CH ₃	14.0	0.83 (t)	7.3

^aRelative to the solvent resonance at 49.0 ppm.

^bRelative to the solvent resonance at 3.30 ppm.

^cs=singlet, d=doublet, dd=doublet of doublets, t=triplet, m=multiplet.

^dThe resonance is a triplet due to coupling with the two fluorine nuclei F1. ¹J_{CF}=258 Hz.

5 ^eThe ⁴J_{HH} coupling with the *meta*-protons is not fully resolved.

na=not applicable, nd=not determined

HRMS calculated for C₂₆H₃₂ClF₂N₄O₅S (M-H)⁺ 633.1597, found 633.1600

- 10 Crystals of Compound A n-butanesulfonic acid salt (obtained as described above in Method 17-B) were analyzed by XRPD and the results are tabulated below (Table 9) and are shown in Figure 4.

Table 9

d-value (Å)	Intensity (%)	Intensity
14.3	8	m
12.8	81	vs
10.3	44	s
8.2	4	w
7.7	13	m
6.7	2	vw

76
A

6.4	8	m
6.2	18	m
6.0	100	vs
5.8	29	s
5.6	4	w
5.4	11	m
5.3	16	m
5.1	15	m
4.98	6.5	w
4.91	34	s
4.76	56	s
4.57	20	m
4.42	13	m
4.36	19	m
4.30	45	s
4.18	42	s
4.13	88	vs
4.01	34	s
3.92	28	s
3.82	18	m
3.64	6.6	w
3.58	16	m
3.47	5	w
3.44	6	w
3.38	12	m
3.35	32	s
3.32	22	s
3.29	12	m
3.20	8	m

77

73

3.17	9	m
3.02	12	m
2.90	6	w
2.81	3.9	vw
2.75	3	vw
2.64	3.5	vw
2.59	10	m
2.57	8	m
2.50	4	w
2.45	5	w
2.40	6	w
2.31	3	vw

DSC showed an endotherm with an extrapolated melting onset temperature of ca 118 °C and TGA showed a 0.04 % weight loss.

5 **Method 18 : Preparation of salts of Compound B**

Method 18-A : General Method for Salt Preparation

The following generic method was employed to prepare salts of Compound B: 200 mg of compound B (see Preparation B above) was dissolved in 5 mL of MIBK (methyl isobutyl ketone). To this solution was added a solution of the relevant acid
10 (1.0 or 0.5 molar equivalent, as indicated in Table 10) dissolved in 1.0 mL of MIBK. After stirring for 10 minutes at room temperature, the solvent was removed by way of a rotary evaporator. The remaining solid material was re-dissolved in about 8 mL of acetonitrile:H₂O (1:1). Freeze-drying afforded colorless amorphous material in each case.

15

Acid employed:

Esylate (ethanesulfonic acid)

Besylate (benzene sulfonic acid)

Cyclohexylsulphamate

Sulphate

Bromide

p-Toluenesulphonate

5 2-Naphtalenesulfonate

Hemisulfate

Methanesulphonate

Nitrate

Hydrochloride

10

Appropriate characterising data are shown in Table 10

Table 10

Salt	Mw acid	Mw salt	MS ES-
Esylate	110.13	643.01	108.8 531.1 641.0
Besylate	158.18	691.06	156.8 531.1 689.2
Cyclohexyl- sulphamate	179.24	712.12	177.9 531.2 710.4
Sulphate	98.08	630.96	531.1
Bromide	80.91	613.79	531.2 613.1

p-Toluenesulphonate	172.20	705.08	170.9 531.1 703.1
2-Naphthalenesulfonate	208.24	741.12	206.9 531.1 739.3
Hemisulfate	98.07	1163.8 (1:2) 630.85 (1:1)	531.1 631.0
Methanesulphonate	96.11	628.99	531.1 627.1
Nitrate	63.01	595.89	531.0 594.0
Hydrochloride	36.46	569.34	531.0 569.0

All salts formed in this Example were amorphous.

Method 18-B

- 5 Further amorphous salts of Compound B were made using analogous techniques to those described in Method 18-A above for the following acids:

1,2-Ethanedisulfonic (0.5 salt)

1S-Camphorsulfonic

10 (+/-)-Camphorsulfonic

p-Xylenesulfonic

2-Mesitylenesulfonic

Saccharin

Maleic

68
A

Phosphoric
D-glutamic
L-arginine
L-lysine
5 L-lysine * HCl

Method 18-C: Preparation of Amorphous Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

Amorphous Compound B (110.9 mg) was dissolved in 2.5 mL 2-propanol and 0.5
10 equivalent of 1,5-naphthalene-disulfonic acid tetrahydrate was added (dissolved in
1mL 2-propanol). The sample was stirred overnight. Only small particles
(amorphous) or oil drops were observed by microscopy. The sample was
evaporated to dryness.

15

Method 18-D: Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

The crystallization experiment was carried out at ambient temperature.
Amorphous Compound B (0.4 gram) was dissolved in ethanol (1.5 mL) and 0.5 eq
20 of 1,5-naphthalene -disulfonic acid tetrahydrate (1.35 gram, 10 % in ethanol) was
added. Heptane (0.7 mL) was then added until the solution became slightly cloudy.
After about 15 minutes the solution became turbid. After about 30 minutes thin
slurry was obtained and additional heptane (1.3 mL) was added. The slurry was
than left overnight for ripening. To dilute the thick slurry, a mixture of ethanol and
25 heptane (1.5 mL and 1.0 mL respectively) was added. After about 1 hour the slurry
was filtered and the crystals were washed with a mixture of ethanol and heptane
(1.5: 1) and finally with pure heptane. The crystals were dried at ambient
temperature in 1 day. The dry crystals weighed 0.395 g.

81

Method 18-E : Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

Amorphous Compound B (1.009 gr) was dissolved in 20 mL 2-propanol + 20 mL ethyl acetate. 351.7 mg 1,5-naphthalene-disulfonic acid tetrahydrate, dissolved in 20 mL 2-propanol, was added drop by drop. Precipitation occurred in about 5 minutes. The slurry was stirred over night and then filtered.

Method 18-F : Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

430.7 mg of the 1,5-naphthalene-disulfonic acid salt was dissolved in 30 mL 1-propanol. The solution was heated to boiling in order to dissolve the substance. The solution was left over night at ambient temperature for crystallization and then the crystals were filtered off.

Method 18-G : Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

The mother liquid from Method 18-F was evaporated and the solid rest (61.2 mg) was dissolved in 6 mL acetonitrile/1-propanol, ratio 2:1. The solution was left overnight at ambient temperature to crystallize and then the crystals were filtered off.

Method 18-H : Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

The sample from Method 18-C was dissolved in about 2 mL methanol. Ethanol (about 3 mL) was added as anti-solvent at ambient temperature and seeds were added. No crystallization occurred, so solvents were evaporated (about half of the amount) and a new portion of ethanol (about 2 mL) and seeds were added. Crystalline particles were formed when stirred at ambient temperature during night.

2782

Method 18-I: Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

Amorphous Compound B (104.1 mg) was dissolved in 2-propanol and 1 equivalent of 1,5-naphthalene-disulfonic acid tetrahydrate, dissolved in 2-propanol, was added. In total, the 2-propanol amount was about 2.5 mL. The solution was stirred at 44°C for about 80 minutes and a precipitate was formed. The particles were crystalline according to polarised light microscopy. The sample was filtered.

Method 18-I: Preparation of Crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt (56.4 mg) was dissolved in 1.5 mL methanol. Methyl ethyl ketone (3 mL) was added. Seeds were added to the solution and crystallization started. The crystals were filtered off, washed with methyl ethyl ketone and air dried.

Method 18-K: Preparation of crystalline Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt

Amorphous Compound B (161.0 mg) was dissolved in 3.5 mL 1-Butanol and the solution was heated to 40°C. In another beaker 57.4 mg of naphthalene-disulfonic acid tetrahydrate was dissolved in 3 mL 1-Butanol. A couple of drops of the acid solution were added to the solution of compound B. Then seeds were added to the solution and after 2 hours the rest of the acid solution was added (at 40°C) slowly. Then the temperature was slowly decreased to room temperature and the experiment was left under stirring overnight. The slurry was filtered, washed with 1-Butanol and dried under vacuum at 44°C for 2 hours. The yield was 83%.

Characterisation

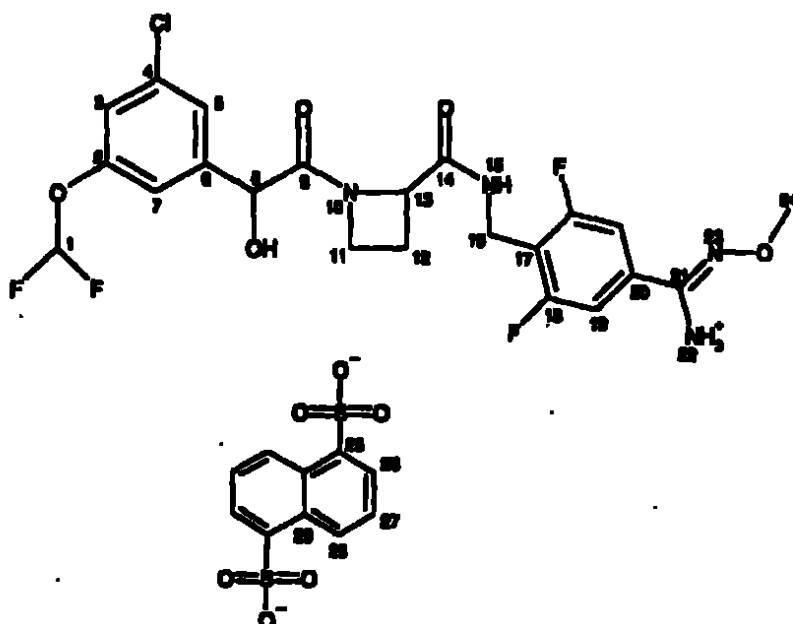
Crystals of Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt, obtained by way of Method 18-D above, was characterised by NMR as follows:

33

21.3 mg of the salt was dissolved in deuterated methanol, 0.7 ml was investigated with NMR spectroscopy. A combination of 1D (^1H , ^{13}C and selective NOE) and 2D (gCOSY, gHSQC and gHMBC) NMR experiments was used.

- 5 All data are in good agreement with the proposed structure, shown below. All carbons and the protons attached to carbons are assigned. Protons attached to heteroatoms are exchanged for deuterium from the solvent and are not detected. Most resonances in the 1D ^1H and ^{13}C NMR spectra are present as sets of two peaks. The reason for this is a slow rotation around the C9-N10 bond, which
10 results in two atropisomers that simultaneously exist in the solution. The 1D NOE experiment is an evidence for this. When a resonance of one atropisomer is irradiated, the saturation is transferred to the corresponding peak of the other atropisomer. The resonances corresponding to the 1,5-naphthalenedisulfonate counter ion do not show atropisomerism.

15



- 20 There are four fluorine atoms in the molecule. They give rise to split resonances for some protons and carbons. Both the proton and the carbon resonance

104
2

corresponding to position 1 are split due to the spin coupling with the two fluorine nuclei in that position. The coupling constants are $^2J_{HF}=73$ Hz and $^1J_{CF}=263$ Hz.

Further, the proton resonance corresponding to H19 is a distorted doublet with $^3J_{HF}=6.9$ Hz due to the spin coupling with the fluorine nuclei in position 18.

- 5 Carbon resonances corresponding to C17, C18, C19 and C20 also exhibit couplings with these fluorine nuclei. The C17 and C20 resonances are triplets with $^2J_{CF}=19$ Hz and $^3J_{CF}=11$ Hz, respectively. The C18 resonance is a doublet of doublets with coupling constants $^1J_{CF}=251$ Hz and $^3J_{CF}=8$ Hz. The C19 resonance is a multiplet.

10

Comparing the magnitudes of integrals for resonances corresponding to the 1,5-naphthalenedisulfonate counter ion and the mother compound gives the stoichiometric relation of a single 1,5-naphthalenedisulfonate counter ion crystallized with two molecules of the mother compound.

15

1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment and proton-proton correlations are shown in Table 11.

Table 11

Atom No.	Type	^{13}C shift/ ppm ^a	1H shift/ppm ^b and multiplicity ^c	J_{HF} /Hz	Through-bond correlation to $^1H^d$
1	CHF	117.5 ^e	6.91 (t)	73 ($^2J_{HF}$)	nd
1'	z	117.5 ^e	6.87 (t)	73 ($^2J_{HF}$)	nd
2	C	153.5	na	na	na
2'		153.3	na	na	na
3	CH	120.0	7.14 (t) ^a	nd	5, 7
3'		119.6	7.11 (t) ^a	nd	5', 7'
4	C	136.1	na	na	na
4'		135.8	na.	na	na

5	CH	125.0	7.31 (t) ^a	nd	3, 7
5'		124.9	7.28 (t) ^a	nd	3', 7'
6	C	144.4	na	na	na
6'		145.3	na	na	na
7	CH	117.2	7.16 (t) ^a	nd	3, 5
7'		117.1	7.12 (t) ^a	nd	3', 5'
8	CH	72.9	5.15 (s)	na	nd
8'		73.6	5.07 (s)	na	nd
9	CO	173.0	na	na	na
9'		173.5	na	na	na
11	CH ₂	51.5	a:4.29 (m) b:4.13	nd	12, 13
11'		48.6	(m) a:4.01 (m) b:3.93 (m)	nd	12', 13'
12	CH ₂	21.7	a:2.46 (m) b:2.17	nd	11, 13
12'		22.8	(m) a:2.61 (m) b:2.03 (m)	nd	11', 13'
13	CH	62.8	4.70 (dd)	6.0 and	12
13'		65.8	5.14 (dd)	9.4 5.6 and 9.1	12'
14	CO	172.4	na	na	na
14'		173.2	na	na	na
16	CH ₂	32.3	4.51 (m)	nd	nd
16'		32.5	4.51 (m)	nd	nd
17	C	121.0 ^f	na	na	na
18	CF ₂	162.8 ^g	na	na	na
19	CH	112.7 ^f	7.35 (d)	6.9 (³ J _{HF})	nd

20	C	127.9 ^a	na	na	na
21	C	160.0	na	na	na
21'		159.9	na	na	na
24	CH ₃	64.8	3.93 (s)	na	nd
24'		64.8	3.92 (s)	na	nd
25	C	142.4	na	na	na
26	CH	126.8	8.16 (d)	7.2	27, 28
27	CH	125.9	7.54 (dd)	8.6 and 7.2	26, 28
28	CH	131.0	8.97 (d)	8.6	26, 27
29	C	131.1	na	na	na

^aRelative to the solvent resonance at 49.0 ppm.

^bRelative to the solvent resonance at 3.30 ppm.

^cs=singlet, d=doublet, dd=doublet of doublets, t=triplet, m=multiplet.

^dObtained in the gCOSY experiment.

5 ^eThe resonance is a triplet due to coupling with the two fluorine nuclei F1. ¹J_{CF}=263 Hz.

^fThe resonance is a triplet due to coupling to the two fluorine nuclei F18. ³J_{CF}=19 Hz.

^gThe resonance is a doublet of doublets due to coupling to the two fluorine nuclei F18.

¹J_{CF}=251 Hz and ³J_{CF}=8 Hz.

^hThe resonance is a multiplet due to coupling to the two fluorine nuclei F18.

10 ⁱThe resonance is a triplet due to coupling to the two fluorine nuclei F18. ³J_{CF}=11 Hz.

^jThe ⁴J_{HH} coupling with the *meta*-protons is not fully resolved.

na=not applicable, nd=not determined

Crystals of Compound B, hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt (obtained by
15 way of Method 18-I above, were analyzed by XRPD and the results are tabulated
below (Table 12) and are shown in Figure 5.

Table 12

d value (Å)	Intensity (%)	Intensity
18.3	99	vs
12.5	22	s
9.9	22	s
9.1	67	vs
8.0	18	m
7.5	17	m
6.8	37	s
6.7	59	s
6.1	39	s
6.0	21	s
5.6	66	vs
5.5	98	vs
4.94	48	s
4.56	59	s
4.39	35	s
4.27	33	s
4.13	81	vs
4.02	87	vs
3.86	88	vs
3.69	69	vs
3.63	100	vs
3.57	49	s
3.48	53	s
3.23	35	s
3.19	43	s
3.16	38	s

27/08

DSC showed an endotherm with an extrapolated melting onset temperature of ca 183 °C and TGA showed a 0.3 % weight loss between 25-110 °C.

5 **Abbreviations**

	Ac	=	acetyl
	APCI	=	atmospheric pressure chemical ionisation (in relation to MS)
	API	=	atmospheric pressure ionisation (in relation to MS)
	aq.	=	aqueous
10	Aze(& (S)-Aze)	=	(S)-azetidine-2-carboxylate (unless otherwise specified)
	Boc	=	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
	br	=	broad (in relation to NMR)
	CI	=	chemical ionisation (in relation to MS)
	d	=	day(s)
15	d	=	doublet (in relation to NMR)
	DCC	=	dicyclohexyl carbodilimide
	dd	=	doublet of doublets (in relation to NMR)
	DIBAL-H	=	di-isobutylaluminium hydride
	DIPEA	=	diisopropylethylamine
20	DMAP	=	4-(<i>N,N</i> -dimethyl amino) pyridine
	DMF	=	<i>N,N</i> -dimethylformamide
	DMSO	=	dimethylsulfoxide
	DSC	=	differential scanning calorimetry
	DVT	=	deep vein thrombosis
25	EDC	=	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
	eq.	=	equivalents
	ES	=	electrospray
	ESI	=	electrospray interface
	Et	=	ethyl
30	ether	=	diethyl ether

	EtOAc	=	ethyl acetate
	EtOH	=	ethanol
	Et₂O	=	diethyl ether
	HATU	=	<i>O</i> -(azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium
5			hexafluorophosphate
	HBTU	=	[<i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl- <i>O</i> -(benzotriazol-1-yl)uronium
			hexafluorophosphate]
	HCl	=	hydrochloric acid, hydrogen chloride gas or hydrochloride salt
			(depending on context)
10	Hex	=	hexanes
	HOAc	=	acetic acid
	HPLC	=	high performance liquid chromatography
	LC	=	liquid chromatography
	m	=	multiplet (in relation to NMR)
15	Me	=	methyl
	MeOH	=	methanol
	min.	=	minute(s)
	MS	=	mass spectroscopy
	MTBE	=	methyl <i>tert</i> -butyl ether
20	NMR	=	nuclear magnetic resonance
	OAc	=	acetate
	Pab	=	<i>para</i> -amidinobenzylamino
	H-Pab	=	<i>para</i> -amidinobenzylamine
	Pd/C	=	palladium on carbon
25	Ph	=	phenyl
	PyBOP	=	(benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium
			hexafluorophosphate.
	q	=	quartet (in relation to NMR)
	QF	=	tetrabutylammonium fluoride
30	rt/RT	=	room temperature

90
X

s	=	singlet (in relation to NMR)
t	=	triplet (in relation to NMR)
TBTU	=	[<i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl- <i>O</i> -(benzotriazol-1-yl)uronium tetrafluoroborate]
5 TEA	=	triethylamine
Teoc	=	2-(trimethylsilyl)ethoxycarbonyl
TEMPO	=	2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical
TFA	=	trifluoroacetic acid
TGA	=	thermogravimetric analysis
10 THF	=	tetrahydrofuran
TLC	=	thin layer chromatography
UV	=	ultraviolet

Prefixes *n*-, *s*-, *i*-, *t*- and *tert*- have their usual meanings: normal, secondary, *iso*, and
15 tertiary.

The invention is illustrated, but in no way limited, by the following Examples.
Unless otherwise specified, HPMC polymers were obtained from Shin-Etsu (trademark
METOLOSE™). For iota-carrageenan the supplier was Fluka for all Examples except
20 Examples 11 and 12 (when CP-Kelco was the supplier). Specific grades and their USP
equivalents are indicated below (once only, on the first occasion that they are disclosed).

General Test Method

Three individual tablets were tested for drug release in 900ml media using
25 a USP dissolution apparatus 2 (paddle+basket¹) at 50 rpm and 37°C. The
dissolution media used were 0.1 M hydrochloric acid (pH 1) and 0.1 M sodium
phosphate buffer (pH 6.8). In-line quantitation was performed using the C
Technologies fibre optic system with 220 nm as the analytical wavelength when
0.1 M HCl was used as the dissolution media and with 260 nm as the analytical
30 wavelength when phosphate buffer pH 6.8 was used as the dissolution media. 350

nm was used as the reference wavelength with both media. For the first two hours of the analysis the release value was measured every 15 minutes, and then every hour for the remainder of the analysis.

[¹ A custom made quadrangular basket of mesh wire, soldered in one of its upper, narrow sides to the end of a steel rod. The rod is brought through the cover of the dissolution vessel and fixed by means of two Teflon nuts, 3.2cm from the centre of the vessel. The lower edge of the bottom of the basket is adjusted to be 1cm above the paddle. The basket is directed along the flow stream with the tablet under test standing on its edge].

EXAMPLE 1

Direct compression of Compound A with HPMC 10 000 cPs and HPMC 50 cPs, ratio 50:50.

The active substance and excipients material were mixed in a beeting vat. The granulate was lubricated with sodium stearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

	Weight	Amount
Compound A	50.5 mg	20.0 %
HPMC 10 000 cPs	100.0 mg	39.5 %
HPMC 50 cPs	100.0 mg	39.5 %
Sodium stearyl fumarate	2.5 mg	1.0 %

Release Data

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	7	1
30	11	2
45	14	3

92
/

88

60	17	4
120	27	7
180	35	10
240	42	13
360	55	18
480	65	23
600	74	28
720	81	33
840	86	38
960	93	43
1080	99	47
1200	105	52

EXAMPLE 2

Granulation and compression of Compound A with HPMC, solubilizing agent and
5 fillers.

The active substance, antioxidant and solubilizer were dissolved in ethanol and distributed in the excipients. This mixture was then granulated with HPC dissolved in ethanol. The granules were then dried in a drying oven. The granulate was lubricated with sodium stearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

11/4/93

	Weight	Amount
Compound A	10 mg	4.7%
Polyoxyl 40 hydrogenated castor oil	10 mg	4.7%
Propyl gallate	0.06 mg	0.03%
HPC LF	10 mg	4.7%
HPMC 50 cPs	70 mg	33%
HPMC 10 000 cPs	30 mg	14%
Sodium aluminium silicate	47 mg	22%
Lactose, anhydrous	28 mg	13%
Microcrystalline cellulose	3 mg	1.4%
Sodium stearyl fumarate	4 mg	2.0%

Release Data

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	10	8
30	15	10
45	20	13
60	24	16
120	39	26
180	52	36
240	64	45
360	83	65
480	98	84
600	108	98
720	111	114
840	113	123
960	114	129

94

90

1080	117	132
1200	120	132

The results have not been corrected for the significant background absorption from the tablet matrix, thus release values of 120% and 132% are seen in 0.1 M HCl and 0.1 M sodium phosphate buffer pH 6.8, respectively.

5

EXAMPLE 3

Granulation and compression of Compound A with HPMC, SDS and fillers.

The active substance and excipients material were mixed in a beating vat. The granulate was lubricated with sodiumstearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

10

	Weight	Amount
Compound A	50 mg	23%
HPC LF	13 mg	6%
HPMC 50 cPs	100 mg	47%
Mannitol	50 mg	23%
Sodium lauryl sulfate	20 mg	9%
Sodium dihydrogen phosphate dihydrate	75 mg	35%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

EXAMPLE 4 : An Example of a formulation comprising the esylate salt of Compound A, HPMC and SDS

15

	Weight	Amount
esylate salt of Compound A	50 mg	23%
HPC LF	13 mg	6%

4/6/03

	Weight	Amount
HPMC 50 cPs	100 mg	47%
Mannitol	50 mg	23%
Sodium lauryl sulfate	20 mg	9%
Sodium dihydrogen phosphate dihydrate	75 mg	35%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

The formulation was prepared according to the method of Example 3.

EXAMPLE 5 : An Example of a formulation with esylate salt of Compound A and Xanthan Gum

5

	Weight	Amount
esylate salt of Compound A	50 mg	19 %
Xanthan Gum	200 mg	80 %
Sodium stearyl fumarate	2.5 mg	1 %

The formulation was prepared according to the method of Example 3.

EXAMPLE 6 : Example of a formulation of the esylate salt of Compound A with HPMC and iota-Carrageenan

10

	Weight	Amount
esylate salt of Compound A	500 mg	50%
HPMC 10 000 cPs	245 mg	25%
Iota-Carrageenan	245 mg	25%
Sodium stearyl fumarate	10 mg	1%

The formulation was prepared according to the method of Example 3.

96
97

EXAMPLE 7 : Example of a formulation of the *n*-propyl sulphonic acid salt of Compound A with HPMC and Iota-Carrageenan

	Weight	Amount
<i>n</i> -propyl sulphonic acid salt of Compound A	100 mg	20%
HPMC 10 000 cPs	150 mg	30%
Iota-Carrageenan	250 mg	50%
Sodium stearyl fumarate	5 mg	1%

5

The formulation was prepared according to the method of Example 3.

EXAMPLE 8 : Example of a formulation of the besylate salt of Compound A with HPMC and Iota-Carrageenan

	Weight	Amount
besylate salt of Compound A	20 mg	16%
HPMC 10 000 cPs	50 mg	41%
Iota-Carrageenan	50 mg	41%
Sodium stearyl fumarate	2 mg	2%

10

The formulation was prepared according to the method of Example 3.

EXAMPLE 9

Direct compression of esylate salt of Compound A with HPMC 10 000 cPs and
15 HPMC 50 cPs, ratio 50:50.

93
93

	Weight	Amount
esylate salt of Compound A	50.5 mg	20.0 %
HPMC 10 000 cPs	100.0 mg	39.5 %
HPMC 50 cPs	100.0 mg	39.5 %
Sodium stearyl fumarate	2.5 mg	1.0 %

The active substance and excipients material has been mixed in a beeting vat. The granulate was lubricated with sodium stearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

5

Release Data

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	6	2
30	10	4
45	13	5
60	15	6
120	23	9
180	30	12
240	37	15
360	48	20
480	57	25
600	65	30
720	72	34
840	78	38
960	83	42
1080	87	46
1200	90	49

98
14**EXAMPLE 10**

Direct compression of esylate salt of Compound A with HPMC 10 000 cPs and iota-carrageenan, ratio 50:50.

- 5 The active substance and excipients material has been mixed in a beeting vat. The granulate was lubricated with sodiumstearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

	Weight	Amount
esylate salt of Compound A	50.5 mg	20.0 %
HPMC 10 000 cPs	100.0 mg	39.5 %
Iota-carrageenan (Fluka)	100.0 mg	39.5 %
Sodium stearyl fumarate	2.5 mg	1.0 %

10 **Release Data**

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	3	2
30	5	3
45	6	5
60	8	6
120	15	13
180	22	21
240	29	30
360	43	51
480	57	72
600	70	91
720	81	104
840	88	106

99
~~100~~

95

960	94	106
1080	96	106
1200	96	106

EXAMPLE 11

The besylate salt of Compound A and excipient materials were granulated in a high shear granulator. The granulate was dried and lubricated with sodiumstearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	230 mg	57 %
HPMC 10 000 cPs	17 mg	4 %
HPMC 50 cPs	12 mg	3 %
Iota-Carrageenan	141 mg	35 %
Sodium stearyl fumarate	4 mg	1 %

Release Data

Time (hours)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
0.5	6	5
1	10	12
1.5	14	20
2	19	28
3	27	45
4	35	61

5	42	76
6	-	87
7	-	95
8	-	98
9	-	98
10	-	98
12	-	98

EXAMPLE 12

- The besylate salt of Compound A and excipient materials were granulated in a high shear granulator. The granulate was dried and lubricated with sodiumstearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	230 mg	45 %
HPMC 10 000 cPs	14 mg	3 %
HPMC 50 cPs	163 mg	32 %
Iota-Carrageenan	94 mg	19 %
Sodium stearyl fumarate	5 mg	1 %

Release Data

Time (hours)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
0.5	5	4
1	10	8

101

97

1.5	16	12
2	21	16
3	32	24
4	43	32
5	54	39
6	-	46
7	-	53
8	-	60
9	-	66
10	-	71
12	-	81
14	-	88
16	-	94
18	-	98
20	-	100

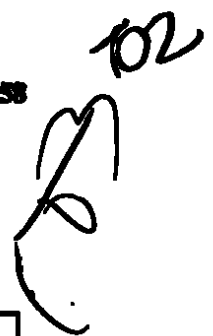
EXAMPLE 13

The besylate salt of Compound A and excipient materials were directly
5 compressed.

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	263 mg	65 %
HPMC 50 cPs	137 mg	34 %
Sodium stearyl fumarate	4 mg	1 %

Release Data

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8



0	0	0
15	3	4
30	8	7
45	13	10
60	18	14
75	23	17
90	27	20
105	32	23
120	36	26
150	44	32
180	51	37
210	59	42
240	66	47
270	72	52
300	78	56
330	-	60
360	-	64
390	-	67
420	-	70
450	-	74
480	-	76
510	-	79
540	-	82
570	-	84
600	-	86

103

EXAMPLE 14

Examples of formulations comprising the besylate salt of Compound A. Examples 14-A and 14-B are prepared according to the general method of Example 3 or 11.

3

EXAMPLE 14-A

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	50 mg	23%
HPC LF	13 mg	6%
HPMC 50 cPs	100 mg	47%
Mannitol	50 mg	23%
Sodium lauryl sulfate	20 mg	9%
Sodium dihydrogen phosphate dihydrate	75 mg	35%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

EXAMPLE 14-B

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	150 mg	35%
Polyethylenoxide WSR N-60K	200 mg	47%
Microcrystalline cellulose	60	14%
Polyvinyl pyrrolidone K30	10 mg	2%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

EXAMPLE 14-C

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	132 mg	30%
Polyethylenoxide WSR N-60K	200 mg	69%
Sodium stearyl fumarate	4 mg	1%

104

100

The formulation was prepared according to the method of Example 3.

Release Data for Example 14-C

Time (hours)	% released in buffer pH 6.8
0	0
0.5	3
1	5
1.5	7
2	9
2.5	11
3	13
4	18
5	23
6	28
7	33
8	38
9	44
10	49
11	54
12	60
13	65
14	70
15	74
16	78
17	82
18	86
19	89
20	92

1506105

101

21	95
22	97
23	99
24	100

EXAMPLE 15

- 5 Examples of formulations comprising the hemi-naphthalene 1,5-disulphonic acid salt of Compound B. All formulations are prepared according to the general method of Example 11.

EXAMPLE 15-A

	Weight	Amount
Hemi-naphthalene 1,5-disulphonic acid salt of Compound B	20 mg	16%
HPMC 10 000 cPs	50 mg	41%
Iota-Carrageenan	50 mg	41%
Sodium stearyl fumarate	2 mg	2%

10

EXAMPLE 15-B

	Weight	Amount
Hemi-naphthalene 1,5-disulphonic acid salt of Compound B	200 mg	44%
Polyethylenoxide WSR N-60K	250 mg	55%
Sodium stearyl fumarate	4 mg	1%

106

EXAMPLE 15-C

	Weight	Amount
Hemi-naphthalene 1,5-disulphonic acid salt of Compound B	200 mg	40 %
HPMC 10 000 cPs	120 mg	24 %
HPMC 50 cPs	180 mg	36 %
Sodium stearyl fumarate	5 mg	1 %

Further Examples may be prepared as above in which HPMC is replaced by, or mixed with, PEO. In case of a mixture, the proportion of PEO : HPMC may range from 90:10 to 5 10:90 %. A particular mixture is PEO : HPMC 80% : 20%, or 75% : 25%.

EXAMPLE 16

Granulation and compression of Compound A with HPMC, SDS and fillers.

The active substance and excipients material were mixed in a beeting vat. The granulate 10 was lubricated with sodiumstearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

	Weight	Amount
Compound A	48 mg	18%
HPC LF	13 mg	5%
HPMC 50 cPs	60 mg	22%
Mannitol	50 mg	19%
Sodium lauryl sulfate	20 mg	7%
Sodium dihydrogen phosphate dihydrate	75 mg	28%

107

103

	Weight	Amount
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

Release Data

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	9	9
30	19	24
45	28	43
60	37	63
120	70	109
180	92	114
240	103	115
360	106	116
480	106	116
600	102	116
720	100	116
840	100	116
960	99	116
1080	99	116
1200	99	116

EXAMPLE 17

- 5 Direct compression of Compound A with Xanthan Gum and iota-Carrageenan, ratio 50:50.

The active substance and excipients material were mixed in a beeting vat. The granulate was lubricated with sodiumstearyl/fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

104/108

	Weight	Amount
Compound A	50.5 mg	20.0 %
1-Carrageenan	100.0 mg	39.5 %
Xanthan Gum	100.0 mg	39.5 %
Sodium stearyl fumarate	2.5 mg	1.0 %

Release data

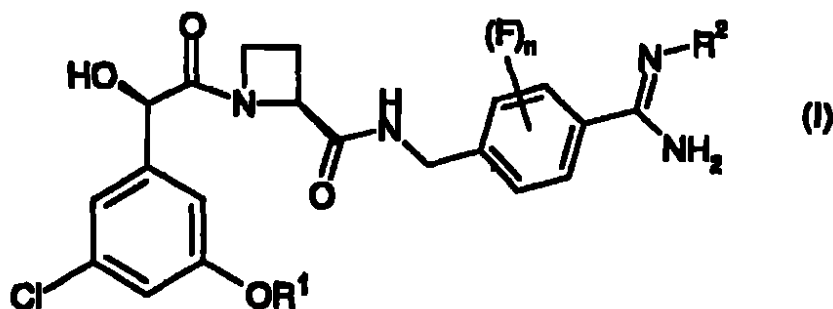
Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	2	1
30	4	1
45	5	2
60	7	3
120	12	6
180	16	11
240	21	17
360	30	31
480	39	45
600	48	60
720	56	75
840	63	88
960	70	97
1080	75	100
1200	79	100

105/09

Any Example above which uses the free base or a salt other than the besylate salt of Compound A may be repeated using the besylate salt of Compound A.

Particular aspects of the invention are provided as follows :-

- 5 1. A modified release pharmaceutical composition comprising, as active ingredient, a compound of formula (I):



wherein

R^1 represents C_{1-2} alkyl substituted by one or more fluoro substituents;

10 R^2 represents hydrogen, hydroxy, methoxy or ethoxy; and

n represents 0, 1 or 2;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a pharmaceutically acceptable diluent or carrier; provided that the formulation may only contain iota-carrageenan and a neutral gelling polymer when the compound of formula (I) is in the form of a salt.

15

2. A composition as described in aspect 1 wherein the active ingredient is a salt of:
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) (Compound A);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe) (Compound B);
 20 or,
 Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) (Compound C).

- 3 A composition as described in aspect 1 or 2 wherein the active ingredient is a crystalline salt of:

25 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) (Compound A);

110
H

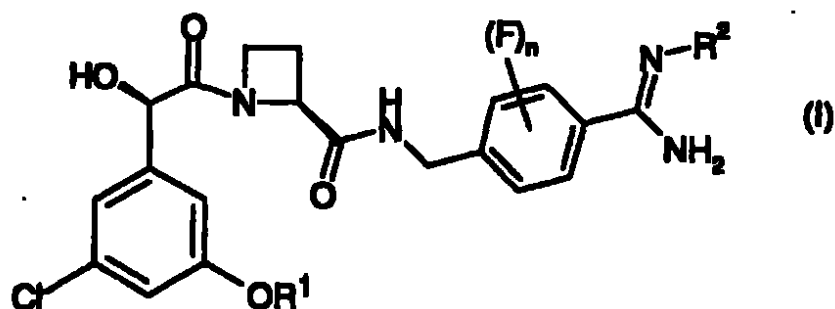
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe) (Compound B);
or, Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) (Compound C).

4. A composition as described in aspect 1, 2 or 3 wherein the composition comprises a
5 gelling matrix.
5. A composition as described in aspect 4 wherein the matrix comprises HPMC.
6. A composition as described in aspect 4 or 5 wherein the matrix comprises iota-
10 carrageenan.
7. A composition as described in aspect 4 wherein the matrix comprises SDS.
8. A composition as described in aspect 2 and 5 or 2 and 6 wherein the matrix
15 additionally comprises xanthan gum.
9. The use of a formulation as described in aspect 1 as a medicament.
10. The use of a formulation as described in aspect 1 in the manufacture of a
20 medicament for the treatment of a cardiovascular disorder.
11. A method of treating a cardiovascular disorder in a patient suffering from,
or at risk of, said disorder, which comprises administering to the patient a
therapeutically effective amount of a pharmaceutical formulation as
25 described in aspect 1.
12. A process for making an immediate release formulation as described in aspect 1.

Also provided is a composition obtainable by any of the Methods and/or Examples described
30 herein.

CLAIMS

1. A modified release pharmaceutical composition comprising, as active ingredient, a compound of formula (I):



5 wherein

R^1 represents C_{1-2} alkyl substituted by one or more fluoro substituents;

R^2 represents hydrogen, hydroxy, methoxy or ethoxy; and

n represents 0, 1 or 2;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a pharmaceutically acceptable diluent or
 10 carrier; provided that the formulation may only contain iota-carrageenan and a neutral gelling polymer when the compound of formula (I) is in the form of a salt.

2. A composition as claimed in claim 1 wherein the active ingredient is a salt of:

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$;

15 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe})$; or

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$.

3 A composition as claimed in claim 1 or 2 wherein the active ingredient is a crystalline salt of:

20 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$;

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe})$; or

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$.

4. A composition as claimed in any one of claims 1, 2 or 3 wherein the active
 25 ingredient is an ethanesulfonic acid, *n*-propanesulfonic acid, benzenesulfonic acid,

(X) 7112

1,5-naphthalenedisulfonic acid, or n-butanesulfonic acid addition salt of Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) or Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe).

- 5 5. A composition as claimed in any one of claims 1 to 4 wherein the active ingredient is Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe), benzene-sulfonic acid salt, characterised by an X-ray powder diffraction pattern characterised by peaks with d-values at 5.9, 4.73, 4.09 and 4.08Å.
- 10 6. A composition as claimed in any one of claims 1 to 4 wherein the active ingredient is Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe), hemi-1,5-naphthalenedisulfonic acid salt, characterised by an X-ray powder diffraction pattern characterised by peaks with d-values at 18.3, 9.1, 5.6, 5.5, 4.13, 4.02, 3.86, 3.69 and 3.63Å.
- 15 7. A composition as claimed in any one of claims 1 to 6 wherein the composition comprises a gelling matrix.
8. A composition as claimed in claim 7 wherein the matrix comprises HPMC.
- 20 9. A composition as claimed in claim 7 or 8 wherein the matrix comprises iota-carrageenan.
10. A composition as claimed in claim 7 wherein the matrix comprises SDS.
- 25 11. The use of a formulation as claimed in claim 1 as a medicament.
12. The use of a formulation as claimed in claim 1 in the manufacture of a medicament for the treatment of a cardiovascular disorder.

113

13. A method of treating a cardiovascular disorder in a patient suffering from, or at risk of, said disorder, which comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of a pharmaceutical formulation as claimed in claim 1.

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
11 de Diciembre de 2003 (11.12.2003)

(10) Número de Publicación Internacional

PCT

WO 03/101424 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: A61K 9/00,
9/22, 9/52, 47/36, 31/397, A61P 9/00

SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) No. Solicitud Internacional: PCT/SE03/00858

(54) Países designados (regional): Patente ARIPO
(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), Patente Eursialética (AM, AZ, BY, KG,
KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente Europea (AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(22) Fecha de Presentación Internacional:
27 de mayo de 2003 (27.05.2003)

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

Declaraciones bajo la Regla 4.17:

(30) Datos relativos a la Prioridad:
0201659-0 31 de mayo de 2002 (31.05.2002) SE

— en cuanto al derecho del solicitante de solicitar y
que se le conceda una patente (Regla 4.17(ii))
para las siguientes designaciones AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL,
PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW,
patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente Eursialética (AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente Europea (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
de la determinación del inventor / de los inventores
(Regla 4.17(iv)) para US únicamente

(71) Solicitante (para todos los países destinatarios con
excepción de US): ASTRAZENECA AB [SE/SE]; S-151
85 Södertälje (SE).

(72) Inventores, e

(75) Inventores/Solicitantes (para US únicamente):
MAGNUSSON, Anders [SE/SE]; AstraZeneca R & D
Mölnadal, S-431 83 Mölnadal (SE). THUNE, Mikael
[SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölnadal, S-431 83 Mölnadal
(SE).

(74) Agente: GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY;
AstraZeneca AB, S-151 85 Södertälje (SE).

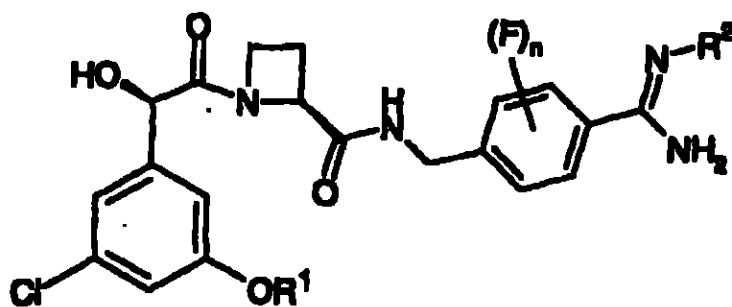
Publicado:

— con informe internacional de búsqueda

(51) Países designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas,
remítase a las "Notas Guía sobre Códigos y
Abreviaturas" que aparece al comienzo de cada edición
regular del Boletín Oficial PCT.

(54) Título: FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN MODIFICADA



(I)

(57) Extracto: Una composición
farmacéutica de liberación
modificada que comprende, como
ingrediente activo, un compuesto
de fórmula (I), en donde R₁
representa C₁₋₂alquilo sustituido
con uno o más sustituyentes
fluoro; R₂ representa hidrógeno,
hidroxi, metoxi o etoxi; y n
representa 0, 1 ó 2; o su sal
farmacéuticamente aceptable; y
un diluyente o vehículo
farmacéuticamente aceptables;
con la condición que la

formulación sólo puede contener lota-carragenina y un polímero gelinizante neutro cuando el compuesto de
fórmula (I) está en la forma de una sal; siendo tales formulaciones útiles para el tratamiento de un trastorno
cardiovascular.

WO 03/101424 A1

115
X/6

FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN MODIFICADA

Esta información se refiere a novedosas formulaciones farmacéuticas de liberación inmediata que posibilitan la administración modificada de sustancias farmacéuticas particulares, a la manufactura de tal formulación, y al uso de tal formulación en el tratamiento o prevención de trombosis.

A menudo es necesario administrar compuestos farmacéuticamente activos con frecuencia durante todo el día, con el fin de mantener un nivel terapéutico deseado de principio activo en el plasma, tejidos del cuerpo y/ tubo digestivo. Éste es particularmente el caso en donde se pretende administrar el medicamento oralmente y proporcionar una respuesta uniforme durante un período ampliado de tiempo.

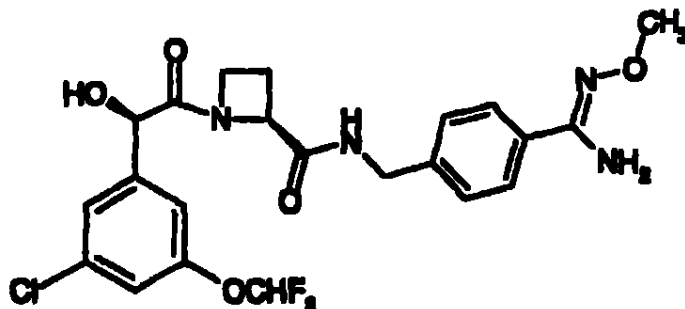
Durante los últimos treinta años más o menos, formas farmacéuticas de liberación modificada se han convertido cada vez más en un método preferido de administrar ciertos medicamentos a pacientes, particularmente *por* la vía oral. Tales formas pueden, por ejemplo, posibilitar la liberación de medicamento durante un período ampliado de tiempo, reduciendo así el número de dosis diarias requeridas, y tiempo durante el cual la velocidad de liberación puede ser sustancialmente uniforme y/o constante, en una parte específica del tubo digestivo, o pulsativa.

Existen numerosas formas farmacéuticas de liberación modificada conocidas en el arte, y éstas se han resumido por, *entre otros*, De Haan y Lerk en *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 6, 57 (1984); Banker en *"Medical Applications of Controlled Release"*, Vol II, eds. Langer and Wise (1984) Boca Raton, Florida, en las páginas 1 a 34; Graffner en *Industrial Aspects of Pharmaceuticals*, ed. Sandel, Swedish Pharmaceutical Press (1993) en las páginas 93 a 104; y Proudfoot *"Dosage Regimens: Their Influence on the Concentration-Time Profile of the Drug in the Body"*, en las páginas 191 a 211 de *"Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design"*, ed. M. E. Aulton (1988) (Churchill Livingstone).

La Solicitud Internacional de Patente No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, fecha de prioridad más reciente 1 de diciembre de 2000,

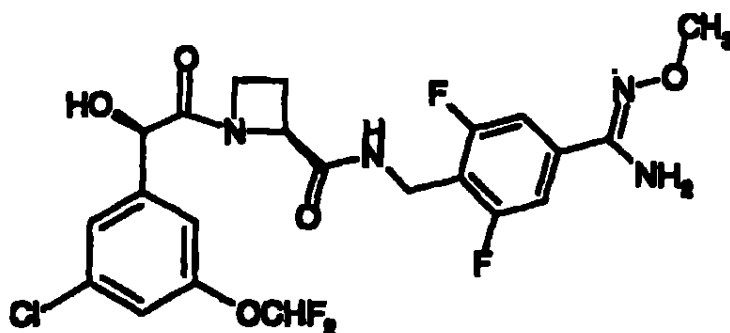
presentada el 30 de noviembre de 2001, publicada el 6 de junio de 2002) divulga un número de compuestos que son, o se metabolizan en compuestos que son, inhibidores competitivos de proteasas tipo tripsina, tales como trombina. Los siguientes tres compuestos se cuentan entre los que se divulgan específicamente:

(a) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$:



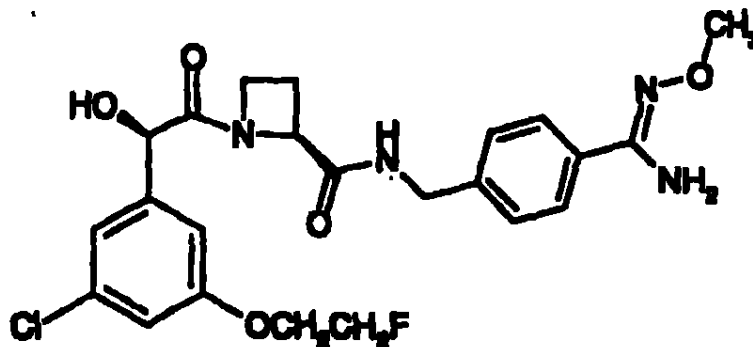
compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto A;

(b) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)}$:



compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto B; y

(c) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$:



compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto C.

Los Compuestos de metoxiamidina A, B y C se metabolizan luego de la administración oral y/o parenteral a un mamífero y forman los correspondientes compuestos de la amidina libre, compuestos éstos últimos

que, según se ha descubierto, son potentes inhibidores de trombina. En consecuencia:

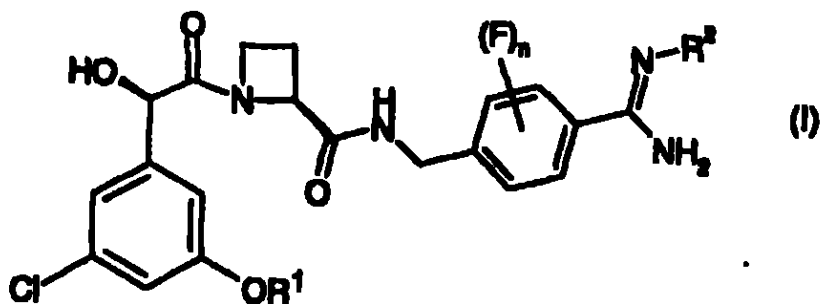
- Compuesto A se metaboliza en $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}$ (compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto D) por un intermedio profármaco $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OH)}$ (compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto G);
- Compuesto B se metaboliza en $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)}$ (compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto E) por un intermedio profármaco $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)}$ (compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto H); y,
- Compuesto C se metaboliza en $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}$ (compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto F) por un intermedio profármaco $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OH)}$ (compuesto que en lo sucesivo se designa como Compuesto J).

Procesos para la síntesis de Compuestos A, B, C, D, E, F, G y J se describen en Ejemplos 12, 40, 22, 3, 39, 21, 2 y 31 (respectivamente) de la solicitud internacional de patente No. PCT/SE01/02657. Una formulación de liberación modificada de estos compuestos, o sus metabolitos tiene que describirse todavía en la literatura.

Ya hemos descubierto que los Compuestos A y C pueden formularse en ciertas formulaciones de iota-carragenina de liberación modificada, y hemos encontrado ahora que los compuestos de fórmula (I) y sus sales pueden formularse en otras formas farmacéuticas de liberación modificada que son fáciles de administrar, por ejemplo mediante administración oral.

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se provee una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de fórmula (I):

118



en donde

R^1 representa C_{1-2} alquilo sustituido por uno o más fluoro sustituyentes;

R^2 representa hidrógeno, hidroxilo, metoxi o etoxi, y

n representa 0, 1 ó 2;

o su sal farmacéuticamente aceptable; y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptables, con la condición que la formulación pueda contener únicamente iota-carragenina y un polímero gelificante neutro cuando el compuesto de fórmula (I) está en la forma de una sal; formulaciones que se designan en lo sucesivo como "las formulaciones de la invención".

Los compuestos de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable, pueden estar en la forma de un solvato, un hidrato, un solvato/hidrato mixto, preferiblemente, un no solvato, tal como un no hidrato. Los solvatos pueden ser de uno o más disolventes orgánicos, tales como alcoholes (por ejemplo C_{1-4}) alquílicos inferiores (por ejemplo metanol, etanol o *iso*-propanol), cetonas (tales como acetona), ésteres (tales como acetato de etilo) o sus mezclas.

En un aspecto particular de la invención R^1 es CHF_2 ó CH_2CH_2F .

La variable n es preferiblemente 0 ó 2.

Compuestos más preferidos de fórmula (I) incluyen aquellos en los cuales n representa 0, o aquellos en los cuales n representa 2, proporcionando así dos átomos de fluoro localizados en las posiciones 2 y 6 (es decir, las dos posiciones *orto* relativas al punto de unión del anillo benceno al grupo $-NH-CH_2-$).

El compuesto de fórmula (I) es especialmente Compuesto A, Compuesto B o Compuesto C.

Un polímero gelificante neutro es un polímero(s) erosionable neutro solo, o una mezcla de más de uno, que tiene propiedades gelificantes y que tiene solubilidad sustancialmente independiente del pH.

Sales preferidas de los compuestos de fórmula (I) son sales de adición de ácido. Sales de adición de ácido incluyen sales inorgánicas de adición de ácido, tales como aquellas de ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y ácidos hidrohálcos, tales como ácido bromhídrico y ácido clorhídrico. Sales más preferidas de adición de ácido incluyen aquellas de ácidos orgánicos, tales como aquellas de ácido dimetilfosfórico; ácido sacarínico; ácido ciclohexilsulfámico; aquellas de ácidos carboxílicos (tales como ácido maleico, ácido fumárico, ácido aspártico, ácido succínico, ácido malónico, ácido acético, ácido benzoico, ácido tereftálico, ácido hipúrico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido pamoico, ácido hidroxibenzoico y similares); aquellas de hidroxiaácidos (tales como ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico (incluidos ácido L-(-)-málico y ácido D,L-málico), ácido glucónico (incluido ácido D-glucónico), ácido glicólico, ácido ascórbico, ácido láctico y similares); aquellas de aminoácidos (tales como ácido glutámico (incluidos ácidos D-glutámico, L-glutámico y D,L-glutámico), arginina (incluida L-arginina), lisina (incluidos clorhidrato de L-lisina y L-lisina), glicina y similares); y, particularmente, aquellas de ácidos sulfónicos, (tales como ácido 1,2-etanodisulfónico, ácidos canforsulfónicos (incluidos ácido 1S-(+)-10-canforsulfónico y ácidos (+/-) canforsulfónicos), ácido etanosulfónico, un ácido propanosulfónico (incluido ácido *n*-propanosulfónico), un ácido butanosulfónico, un ácido pentanosulfónico, un ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido *p*-xilenosulfónico, ácido 2-mesitilenosulfónico, ácidos naftalenosulfónicos (incluidos ácido 1,5-naftalenosulfónico y ácido naftalenosulfónico), ácido bencenosulfónico, ácidos hidroxibencenosulfónicos, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido 3-hidroxietanosulfónico y similares).

Sales particularmente preferidas incluyen aquellas de ácidos C₁₋₆ (por ejemplo C₁₋₄) alquenosulfónicos, tales como ácido etanosulfónico (esilato) y ácido propanosulfónico (por ejemplo ácido *n*-propanosulfónico) y ácidos

120
120

arilsulfónicos sustituidos de manera opcional (por ejemplo con uno más grupos C_{1-2} alquilo), tales como ácido bencenosulfónico (besilato) y ácido naftalenodisulfónico.

Proporciones estequiométricas de ácido a base libre están en el rango 0.25:1.5 a 3.0:1, tales como 0.45:1.25 a 1.25:1, incluido 0.50:1 a 1:1.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se provee una formulación que comprende un compuesto de fórmula (I) en forma sustancialmente cristalina.

Aunque hemos descubierto que es posible producir compuestos de la invención en formas que son cristalinas en más de 80%, por "sustancialmente cristalina" incluimos cristalina en más de 20%, preferiblemente en más de 30%, y más preferiblemente en más de 40% (por ejemplo, en más de 50, 60, 70, 80 ó 90%).

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se provee asimismo un compuesto de la invención en forma parcialmente cristalina. Por "parcialmente cristalina" incluimos 5% o entre 5% y 20% cristalina.

El grado (%) de cristalinidad puede determinarse por la persona experta usando difracción de rayos X en polvo (XRPD). También pueden emplearse otras técnicas, tales como NMR de estado sólido, FT-IR, espectroscopia Raman, calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microcalorimetría.

Compuestos preferidos de fórmula (I) que pueden prepararse en forma cristalina incluyen sales de ácidos C_{1-6} (por ejemplo C_{2-6} , tales como C_{2-4}) alcanosulfónicos, tales como ácido etanosulfónico, ácido propanosulfónico (por ejemplo ácido *n*-propanosulfónico) y ácidos arilsulfónicos opcionalmente sustituidos, tales como ácido bencenosulfónico y ácido naftalenodisulfónico.

El término composición farmacéutica de "liberación modificada" se entenderá bien por la persona experta como inclusiva de cualquier composición/formulación en la cual la iniciación y/o velocidad de liberación del medicamento se altera por manipulaciones galénicas y, en consecuencia, incluye la definición provista en la *Farmacopea de los*

Estados Unidos (USP XXII) en las páginas xliii y xliv de la parte del prefacio/preámbulo, cuya divulgación relevante en ese documento se incorpora aquí por referencia.

En el presente caso, la liberación modificada puede posibilitarse por medio de un vehículo apropiado farmacéuticamente aceptable, y/o otros medios, vehículo o medios que (según lo apropiado) causen una alteración de la iniciación y/o velocidad de liberación de ingrediente activo. Por lo tanto, el término se entenderá por aquellos expertos en el arte como inclusivo de composiciones que se adaptan (por ejemplo, como se describe aquí) para permitir una liberación de medicamento "sostenida", "prolongada" o "extendida" (en la cual el medicamento se libera a una velocidad suficientemente retardada para producir una respuesta terapéutica sobre un período de tiempo requerido, incluida opcionalmente la provisión de una cantidad inicial de medicamento que se hace disponible en un tiempo predeterminado luego de la administración, para causar una respuesta terapéutica deseada inicial); composiciones que posibilitan una liberación "retardada" de medicamento (en la cual la liberación de medicamento se retarda hasta que se alcanza una zona específica del tubo digestivo, luego de lo cual la liberación del medicamento puede ser pulsátil o modificarse aún más, como se indica más arriba); así como las composiciones denominadas de "acción repetida" (en las cuales una dosis de medicamento se libera inmediatamente o algún tiempo después de la administración, y dosis adicionales se liberan en un tiempo posterior).

Preferimos que las composiciones de la invención permitan una liberación retardada o, más preferiblemente, una liberación de medicamento sostenida (que es prolongada o extendida) durante un período de tiempo. Composiciones más preferidas de la invención pueden adaptarse (por ejemplo como se describe aquí) para proporcionar una dosis suficiente de medicamento durante el intervalo de tiempo (independientemente del número de dosis por unidad de tiempo) para producir un efecto terapéutico deseado. La liberación puede ser uniforme y/o constante durante un período extendido de tiempo, u otra modalidad.

Las composiciones de la invención, por ejemplo, pueden estar en la forma de las siguientes, todas las cuales son bien conocidas por los expertos en el arte:

- (a) Píldoras recubiertas, tabletas o cápsulas, que pueden diseñarse para liberar por lo menos alguna cantidad del medicamento cuando la formulación en cuestión alcanza una zona particular del tubo digestivo. Por ejemplo, tales tabletas pueden suministrarse con alguna forma de cubierta gastro-resistente, tal como una capa recubridora entérica, que posibilite la liberación de por lo menos parte del medicamento presente en la formulación en una parte específica del tubo digestivo, tal como las zonas intestinales.
- (b) Sistemas de unidad múltiple o multiparticulado, que pueden estar en la forma de micropartículas, microesferas o píldoras que comprenden el medicamento (las cuales unidades múltiples / multiparticulados pueden posibilitar la descarga gradual de la formulación, que contiene el medicamento, del estómago al duodeno y, posteriormente, a través del intestino delgado y grueso, liberando simultáneamente el medicamento a una velocidad pre-determinada).
- (c) Formulaciones que comprenden dispersiones o soluciones sólidas de compuesto activo en una matriz, que pueden estar en la forma de una cera, goma o grasa, o, particularmente, en la forma de un polímero, en el cual la liberación del medicamento tiene lugar mediante erosión superficial gradual de la tableta y/o difusión.
- (d) Sistemas que comprenden una capa bioadhesiva, capa que puede facilitar la retención prolongada de la composición de la invención en una zona particular del tubo digestivo (por ejemplo el estómago). Esto incluye sistemas de flotación o inmersión (que son sistemas de densidad alta y baja, respectivamente), así como sistemas denominados "aumentadores del volumen".
- (e) Dispositivos denominados "pendientes", en los cuales el medicamento se une a una resina de intercambio de iones, que posibilita la liberación gradual del medicamento mediante la

123
10/1

influencia de otros iones presentes en el tubo digestivo, por ejemplo, el entorno ácido del estómago.

- (f) Dispositivos en los cuales el ritmo de liberación del medicamento se controla mediante su potencial químico (por ejemplo, la Bomba Osmótica).
- (g) Sistemas en los cuales el medicamento se libera por difusión a través de membranas, incluidos sistemas multicapa.
- (h) Dispositivos que actúan de acuerdo con una señal externa, para liberar una pequeña cantidad de medicamento.
- (i) Sistemas auto-programados, activos, que pueden contener un elemento sensor, elemento que responde a un entorno biológico particular para modular la administración del medicamento.
- (j) Depósitos silásticos (de silicona-plástico) de liberación controlada, que liberan medicamento como una función de la difusión de agua y/o fluidos gastrointestinales en el dispositivo *por* un puerto de entrada/salida, que resulta en la disolución y liberación subsiguiente de medicamento.

Los principios anteriores se discuten exhaustivamente en referencia del arte previo, inclusive *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 6, 57 (1984); *Medical Applications of Controlled Release*, Vol II, eds. Langer and Wise (1984) Boca Raton, Florida, en las páginas 1 a 34; *Industrial Aspects of Pharmaceuticals*, ed. Sandel, Swedish Pharmaceutical Press (1993) en las páginas 93 a 104; y páginas 191 a 211 de "*Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*", ed. M. E. Aulton (1988) (Churchill Livingstone); así como las referencias citadas en los documentos arriba mencionados, cuyas divulgaciones en todos esos documentos se incorporan aquí por referencia.

En otro aspecto, la presente invención provee una formulación oral de liberación modificada en donde R^2 es hidroxilo o metoxi, (tal como Compuesto A, B, C, G, H o J; R^2 es especialmente metoxi, por ejemplo Compuesto A, B o C) o su sal farmacéuticamente aceptable (especialmente su sal cristalina; tal como una sal de ácido C_{1-6} (por ejemplo C_{2-6} , tal como

C₂₋₄) alcanosulfónico, o una sal de ácido arilsulfónico opcionalmente sustituido).

La invención incluye formulaciones parenterales de liberación modificada que usan compuestos de fórmula (I). En un aspecto adicional la presente invención provee una formulación parenteral de liberación modificada en donde R² es hidrógeno (tal como Compuesto D, E o F).

En todavía un aspecto más la invención provee una formulación de liberación modificada que comprende una matriz gelificante. La matriz comprende preferiblemente hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), iota-carragenina, dodecilsulfato de sodio (SDS) y/o goma xantana.

Más preferiblemente la matriz comprende hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), iota-carragenina y/o PEO. La HPMC puede ser una o una mezcla de dos o más HPMCs de diferentes viscosidades o pesos moleculares (como se describe en una parte más adelante).

La invención provee igualmente una formulación de liberación modificada que comprende una o más HPMCs y uno o más componentes adicionales seleccionados del grupo que comprende: iota-carragenina, celulosa microcristalina, un lubricante (tal como estearilfumarato de sodio) manitol.

La invención provee además, en un aspecto adicional, una formulación de liberación modificada que comprende goma xantana; o que comprende iota-carragenina y PEO (como se describe más adelante).

Por consiguiente, formulaciones apropiadas de liberación modificada pueden prepararse de acuerdo con técnicas estándar en farmacia, tal como se describe aquí en los documentos arriba mencionados, y/o que son bien conocidas.

Preferimos que, en las composiciones de la invención, el ingrediente activo se provea junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En particular, preferimos que las composiciones de la invención se presenten en la forma de ingrediente activo en un matriz polimérica.

A este respecto, preferimos que las composiciones de la invención se provean para administración oral en la forma de un sistema de liberación

1250
1/10

modificada así llamado de "esponjamiento", o un sistema de liberación modificada de "matriz gelificante", en el cual el ingrediente activo se provee junto con un polímero que se esponja en un medio acuoso (que es un "componente gelificante hidrófilo"). El término "medio acuoso" tiene que entenderse en este contexto como inclusivo de agua, y líquidos que son, o que se aproximan a, aquellos presentes en el tubo digestivo de un mamífero. Tales sistemas poliméricos comprenden típicamente estructuras macromoleculares hidrófilas, las cuales en una forma seca pueden hallarse en estado vítreo, o al menos parcialmente cristalino, y que se esponjan cuando entran en contacto con medios acuosos. La liberación modificada del medicamento se reliza, por lo tanto, por uno o más de los siguientes procesos: transporte del disolvente a la matriz polimérica, esponjamiento del polímero, difusión del medicamento a través del polímero esponjado y/o erosión del polímero, uno o más de los cuales puede servir para liberar el medicamento lentamente de la matriz polimérica al medio acuoso.

Por consiguiente, materiales poliméricos apropiados (que actúan como vehículos), los cuales pueden usarse como el componente gelificante hidrófilo de una composición de liberación modificada de matriz gelificante incluyen aquellos con un peso molecular de más de 5000 g/mol, y que:

- (a) son por lo menos escasamente solubles en; o
- (b) se esponjan cuando se ponen en contacto con, medios acuosos (como se definen más arriba en el texto), de modo que permitan la liberación de medicamento del vehículo.

Polímeros apropiados de matriz gelificante, los cuales pueden ser sintéticos o naturales, incluyen por consiguiente polisacáridos, tales como maltodextrina, xantana, dextrina escleroglucana, almidón, alginatos, pululana, ácido hialurónico, quitina, quitosana y similares; otros polímeros naturales, tales como proteínas (albúmina, gelatina etc.), poli-L-lisina; ácido poli(acrílico) sódico; poli(hidroxiálquilmétacrilatos) (por ejemplo poli(hidroxietilmétacrilato)); carboxipolimetileno (por ejemplo Carbopol™); carbómero; polivinilpirrolidona; gomas, tales como goma guar, goma arábica, goma karaya, goma ghatti, goma de algarrobo, goma de

126
7
6

tamarindo, goma de gelana, goma tragacanto, agar, pectina, gluten y similares; alcohol poli(vinílico); alcohol etilen vinílico; poli(óxido de etileno) (PEO); y éteres de celulosa, tales como hidroximetilcelulosa (HMC), hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxipropilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC), carboxietilcelulosa (CEC), etilhidroxietilcelulosa (EHEC), carboximetilhidroxietilcelulosa (CMHEC), hidroxipropilmetil-celulosa (HPMC), hidroxipropiletilcelulosa (HPEC) y carboximetilcelulosa sódica (Na CMC); así como copolímeros y/o mezclas (simples) de cualquiera de los polímeros ya mencionados. Algunos de los polímeros arriba mencionados pueden además enlazarse cruzadamente mediante técnicas estándar.

Para las composiciones de la invención en la forma de sistemas de matriz gelificante, preferimos el polímero de esponjamiento principal que se emplea se HPC, maltodextrina, escleroglucana o carboxipolimetileno, más preferiblemente, PEO o xantana, y, especialmente, HPMC, así como copolímeros y/o mezclas (simples) de cualquiera de estos polímeros. También se prefiere iota-carragenina.

Cuando se emplean PEO, xantana y HPMC en (en decir, como mínimo uno de los polímeros de) el componente gelificante hidrófilo, pesos moleculares preferidos (es decir, pesos moleculares promedio, determinados por técnicas estándar, tales como osmometría, cromatografía de exclusión de tamaño con un detector de refracción (en la cual el peso molecular se determina mediante curvas de calibración estándar), dispersión de luz y/o técnicas ultracentrífugas), para estos polímeros están en el rango 5,000 g/mol hasta 200,000,000 g/mol, tales como hasta 100,000,000 g/mol, preferiblemente hasta 25,000,000 g/mol y más preferiblemente hasta 20,000,000 g/mol. Pueden emplearse mezclas de polímeros PEO, xantana y HPMC con diferentes pesos moleculares en estos rangos.

Polímeros HPMC apropiados incluyen además aquellos que producen soluciones 2% p/p de polímero en agua con viscosidades, medidas por técnicas estándar, tales como las descritas generalmente en la *Farmacopea de los Estados Unidos XXIV* (USP XXIV/NF19) en la página 2002 y

127

siguientes, así como, específicamente, en las páginas 843 y 844 (cuyas revelaciones relevantes en ese documento se incorporan aquí por referencia), de entre 3 y 150,000 cps (a 20°C), tales como entre 10 y 120,000 cps, preferiblemente entre 30 y 50,000 cps y, más preferiblemente, entre 50 y 15,000 cps. Pueden emplearse mezclas de polímeros HPMC con diferentes viscosidades entre estos rangos, con el fin, por ejemplo, de obtener mezclas de HPMC que produzcan soluciones como se menciona arriba con viscosidades "promedio" (es decir, una viscosidad de la mezcla) en los rangos preferidos ya mencionados. Análogamente, pueden emplearse mezclas de polímeros HPMC (con viscosidades y/o viscosidades "promedio" en estos rangos) con otros polímeros mencionados arriba. Polímeros HPMC apropiados incluyen aquellos que cumplen los tipos de sustitución estándar de la *Farmacopea de los Estados Unidos* 2208, 2906, 2910 y 1828 (véase USP XXIV/NF19 para mayores detalles). Polímeros HPMC apropiados incluyen, por lo tanto, aquellos que se venden bajo la marca registrada METHOCEL™ (Dow Chemical Corporation) o la marca registrada METOLOSE™ (Shin-Etsu).

Polímeros apropiados de xantana incluyen aquellos que producen soluciones 1% p/p de polímero en agua con viscosidades, medidas por técnicas estándar, tales como las descritas generalmente en la *Farmacopea de los Estados Unidos* XXIV (USP XXIV/NF19) en la página 2002 y siguientes, así como, específicamente, en las páginas 2537 y 2538 (cuyas divulgaciones relevantes en ese documento se incorporan aquí por referencia), de entre 60 y 2,000 cps (a 24°C), por ejemplo entre 600 y 1,800 cps y, preferiblemente, entre 1,200 y 1,600 cps. Pueden emplearse mezclas de polímeros de xantana con diferentes viscosidades en estos rangos, con el fin, por ejemplo, de obtener mezclas de xantana que producen soluciones como se menciona arriba con viscosidades "promedio" (es decir, una viscosidad de la mezcla) en los rangos preferidos mencionados arriba. Análogamente, pueden emplearse mezclas de polímeros de xantana (con viscosidades y/o viscosidades "promedio" en estos rangos) con otros polímeros mencionados arriba. Polímeros apropiados de xantana incluyen

128
4
10
1

los vendidos bajo las marcas registradas XANTURAL™ y KELTROL™ (CPKelco), y SATIAXANE™ (Degussa, Texturant Systems).

La elección del polímero se determinará por la naturaleza del ingrediente activo/medicamento que se emplea en la composición de la invención, así como la velocidad deseada de liberación. En particular, se notará por la persona experta, por ejemplo en el caso de HPMC, que un peso molecular más alto proveerá, en general, una velocidad más lenta de liberación de medicamento de la composición. Más aún, en el caso de HPMC, diferentes grados de sustitución de grupos metoxilo y grupos hidroxipropoxilo darán lugar a cambios en la velocidad de liberación de medicamento de la composición. En este aspecto, y como se indicó más arriba, puede ser deseable proporcionar composiciones de la invención en la forma de sistemas de matriz gelificante, en los cuales el vehículo de polímero se provee mediante una combinación de dos o más polímeros de, por ejemplo, diferentes pesos moleculares, por ejemplo, como se describe a partir de ahora, con el fin de producir un perfil particular de liberación requerido o deseado.

Cuando están en la forma de sistemas de matriz gelificante, hemos descubierto igualmente que la velocidad de liberación de medicamento de composiciones de la invención puede regularse controlando la proporción medicamento: polímero en composiciones individuales, y la proporción área superficial: volumen de las mismas, (por ejemplo tabletas) que comprenden el medicamento y el sistema vehículo del polímero.

Composiciones de la invención, en la forma de un sistema de matriz gelificante u otra modalidad, pueden contener uno o más excipientes adicionales (además del sistema vehículo del polímero) para modificar aún más la liberación del medicamento, para mejorar las propiedades físicas y/o químicas de la composición final, y/o para facilitar el proceso de manufactura. Tales excipientes son convencionales en la formulación de composiciones de liberación modificada.

Por ejemplo, composiciones de la invención pueden contener uno o más de los siguientes diluyentes: fosfato de calcio (fosfato monocálcico,

fosfato dicálcico y fosfato tricálcico), lactosa, celulosa microcristalina, manitol, sorbitol, dióxido de titanio, silicato de aluminio y similares. Diluyentes preferidos incluyen celulosa microcristalina y también manitol.

Composiciones de la invención pueden contener uno o más de los siguientes lubricantes: estearato de magnesio, estearilfumarato de sodio y similares.

Composiciones de la invención pueden contener un suavizante, tal como una sílice coloidal.

Composiciones de la invención pueden contener uno o más de los siguientes aglutinantes: polivinilpirrolidona, lactosa, manitol, celulosa microcristalina, un polietilen glicol (PEG), una HPMC de un bajo peso molecular, una MC de un bajo peso molecular, una HPC de un bajo peso molecular y similares. Aglutinantes preferidos incluyen celulosa microcristalina.

Composiciones de la invención pueden contener uno o más de los siguientes agentes controladores de pH: ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido cítrico y similares) o sus sales de metal alcalino (por ejemplo sodio), sales farmacéuticamente aceptables (por ejemplo sales de sodio, magnesio o calcio) de ácidos inorgánicos (tales como ácido carbónico o ácido fosfórico), óxidos de magnesio, así como sulfatos, metabisulfatos, propionatos y sorbatos de metal alcalino y metal alcalinotérreos (por ejemplo sodio, calcio, potasio y similares).

Otros excipientes adicionales pueden incluir agentes colorantes, saborizantes, solubilizantes (tales como SDS), agentes de recubrimiento, preservantes, etc.

Pueden emplearse combinaciones de los excipientes adicionales indicados más arriba.

Se observará que algunos de los excipientes arriba mencionados, que pueden estar presentes en la composición final de la invención, pueden tener más de una de las funciones indicadas más arriba. Más aún, excipientes adicionales mencionados arriba pueden funcionar asimismo como parte de un componente gelificante hidrófilo en un sistema de matriz

130
/

gelificante.

La cantidad total de excipientes adicionales (no incluyendo, en el caso de sistemas de matriz gelificante, el vehículo(s) del polímero principal) que pueden estar presentes en la composición de la invención dependerá de la naturaleza de la composición, así como de la naturaleza, y cantidades de, los demás constituyentes de esa composición, y pueden ser una cantidad de hasta 85%, por ejemplo entre 0.1 a 75%, tal como 0.2 a 65%, preferiblemente 0.3 a 55%, más preferiblemente 0.5 a 45% y, especialmente 1 a 40%, tal como 2 a 35% p/p. En cualquier caso, la elección, y cantidad, de excipiente (s) pueden determinarse rutinariamente (es decir, sin recurso a un aporte inventivo) por la persona experta.

En sistemas de matriz gelificante, la cantidad de polímero en el sistema debe ser suficiente para garantizar que se proporcione una dosis suficiente de medicamento durante el intervalo de administración, para producir el efecto terapéutico deseado. Por consiguiente, para un sistema de matriz gelificante, preferimos que tome por lo menos 2 horas (preferiblemente por lo menos 4 horas, especialmente por lo menos 6 horas) para que el 80% (especialmente 60%) del contenido inicial del medicamento de la composición se libere a un paciente después de la administración bajo las condiciones de prueba descritas a partir de ahora, y particularmente durante un período de entre 8 y 24 horas. Muy preferiblemente por lo menos 80% del contenido inicial del medicamento de la composición se libera en un tiempo aproximadamente entre 8 y 24 horas. Cantidades apropiadas de polímero que pueden incluirse, las cuales dependerán, *entre otros*, del ingrediente activo que se emplea en la composición, cualesquiera excipientes que puedan estar presentes y la naturaleza del polímero que se emplea, están en el rango 5 a 99.5%, por ejemplo 10 a 95%, preferiblemente 30 a 80% p/p. En cualquier caso, la elección y la cantidad del polímero pueden determinarse rutinariamente por la persona experta.

En otra formulación preferida preferimos que los compuestos de la invención se formulen juntos en una composición de matriz gelificante, que

131
X

comprenda iota-carragenina y uno o más polímeros gelificantes neutros.

La iota-carragenina está preferiblemente presente en tal preparación preferida en un nivel de más de 15% en peso. Grados preferidos de iota-carragenina incluyen iota-carragenina de grado farmacéutico (por ejemplo, disponible de FMC Biopolymer), que tiene una viscosidad de no menos de 5 centipoise (cps), preferiblemente en el rango 5-10 cps (para una solución al 1.5% calentada a 82°C, tras lo cual se midió la viscosidad a 75°C con un viscosímetro Brookfield LV equipado con un husillo #1 que giraba a una velocidad de 30 rpm), y iota-carragenina de grado técnico (por ejemplo, disponible de Fluka Biochemica), que tiene preferiblemente una viscosidad de no menos de 14 mPa.s, para una solución acuosa al 0.3 % calentada a 20°C, tras lo cual se midió la viscosidad usando un viscosímetro de esfera, de tipo Haake, usado junto con un termostato Lauda C3 y Hakke Mess-System III, y usando esferas de acero inoxidable recubiertas de oro de densidad 7.8 g/cm³.

El polímero gelinizante neutro puede ser uno solo, o una mezcla de más de uno, polímero(s) neutro que tiene propiedades gelinizantes y que posee solubilidad sustancialmente independiente del pH.

El polímero gelinizante neutro está, preferiblemente, presente en la formulación en un nivel de más de 10%, pero preferiblemente más de 20% en peso.

Polímeros gelinizantes neutros apropiados incluyen óxido de polietileno (PEO), derivados y miembros de la familia PEO (por ejemplo, polietilen glicol (PEG)), que preferiblemente existen en forma natural en el estado sólido, de peso molecular o viscosidad apropiados. Si se usa como un polímero gelinizante neutro único, un PEO tiene preferiblemente un MW (peso molecular) de ≥ 4 millones (4M), correspondiente a un rango de viscosidad de la solución acuosa de 1650-5500 mPa.s (ó 1650-5500 cps; medido para una solución acuosa al 1% a 25°C, usando un viscosímetro Brookfield RVF, con un husillo No. 2, a 2 rpm). Otros ejemplos de PEOs apropiados incluyen un PEO de MW alrededor de 5 millones (5M), correspondiente a un rango de viscosidad de la solución acuosa de 5500-

137
↑
(

7500 mPa.s, o un PEO de MW alrededor de 8 millones (8M), correspondiente a un rango de viscosidad de la solución acuosa de 10000-15000 mPa.s. Este rango cubre el valor de la viscosidad de solución típica (en cps) medido a 25°C, citado para polímero, en la USP 24/NF 19, edición 2000, páginas 2285-2286. Si se usa PEG como un polímero gelinizante neutro único, éste tiene preferiblemente un peso molecular elevado, por ejemplo, un MW de alrededor 20000, correspondiente a un rango de viscosidad de 2700-3500 mPa.s (ó 2700-3500 cps), medido usando una solución acuosa al 50% (p/p) a 20°C, usando un viscosímetro capilar (Ubbelohde o equivalente). [Ref: Farmacopea Europea 3ª Ed., 2000, Suplemento, páginas 908-909.]

Otros polímeros gelinizantes neutros apropiados incluyen derivados de celulosa tales como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) hidroxietilcelulosa (HEC) con viscosidades adecuadamente altas (por ejemplo "HPMC 50 cps", "HPMC 10000 cps", "HPMC 15000 cps", "HEC tipo HH" ó "HEC tipo H"). Cuando se emplea como un polímero neutro único, los polímeros de hidroxipropilmetilcelulosa como "HPMC 10000 cps" y "HPMC 15000 cps" tienen, respectivamente, viscosidades aparentes de 7500-14000 mPa.s (ó 7500-14000 cps), y 11250-21000 mPa.s (ó 11250-21000 cps), medidas a 20°C con una solución acuosa al 2% (p/p), calculadas con referencia a la sustancia seca, usando un viscosímetro capilar (Ubbelohde o equivalente). Un tipo de polímero de hidroxietilcelulosa, por ejemplo, "Natrosol 250 Pharma, tipo HH", de Hercules Incorporated (Aqualon), muestra típicamente una viscosidad Brookfield de alrededor de 20,000 mPa.s usando un instrumento Brookfield Synchro-Lectric Modelo LVF, en las condiciones concentración de la solución al 1%, husillo No. 4, velocidad del husillo 30 rpm, factor 200, 25°C (Véase Natrosol Physical and Chemical Properties booklet, 33.007-E6 (1993), página 21).

Formulaciones particulares que pueden mencionarse incluyen aquellas en las cuales el compuesto de la invención se formula junto con iota-carragenina y HPMC (10,000 cps) en una proporción 50:50 (% en

33
13
7
/

peso), o junto con iota-carragenina y HPMC (50 cps) & HPMC (10,000 cps) en una proporción 35:60:5 (% en peso), o junto con iota-carragenina y PEO 4M en una proporción 50:50 (% en peso). Excipientes adicionales preferidos en tales formulaciones incluyen lubricantes, tales como estearilfumarato de sodio.

En un aspecto, la invención provee una formulación no inyectable de la invención, que comprende Compuesto A, B o C o su sal; una HPMC y un lubricante (tal como estearilfumarato de sodio). En un aspecto adicional la formulación puede comprender una mezcla de 2 o más HPMCs de diferentes viscosidades (tales como 10,000cPs y 50 cPs). Además, la formulación puede comprender adicionalmente un agente solubilizante [tal como dodecil sulfato de sodio (SDS), laurilsulfato de sodio o aceite de ricino hidrogenado con polioxilo 40].

Cantidades apropiadas de ingrediente activo en las composiciones de la invención, en la forma de sistemas de matriz gelificante u otra modalidad, dependen de muchos factores, tales como la naturaleza de ese ingrediente (base libre/sal, etc.), la dosis que se requieren, y la naturaleza, y cantidades, de otros constituyentes de la composición. No obstante, pueden estar en el rango 0.5 a 80%, por ejemplo 1 a 75%, tal como 3 a 70%, preferiblemente 5 a 65%, más preferiblemente 10 a 60% y especialmente 15 a 55% p/p. En cualquier caso, la cantidad de ingrediente activo a incluirse puede determinarse rutinariamente por la persona experta.

Una dosis diaria típica de un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable, está en el rango 0.001 a 100 mg/kg peso corporal de base libre (es decir, en el caso de una sal, excluyendo cualquier peso resultante de la presencia de un ión contrario), independientemente del número de dosis individuales que se administran durante el curso del día. Una dosis diaria preferida está en el rango 20-500 mg.

Composiciones de la invención, tales como las descritas más arriba en el texto, pueden elaborarse de acuerdo con técnicas bien conocidas, tales como las descritas en las referencias mencionadas más arriba en el texto. Composiciones de la invención que están en la forma de sistemas de matriz

gelificante pueden prepararse por técnicas estándar, y usando equipo estándar, conocidos por la persona experta, incluida granulación húmeda o seca, compresión/compactación directa, secamiento, molienda, mezclado, tableteado y recubrimiento, así como combinaciones de estos procesos, por ejemplo, como se describe a partir de este momento.

Aunque las composiciones de la invención se adaptan preferiblemente para administrarse oralmente, su uso no se limita a ese modo de administración. Composiciones de liberación modificada parenteral de la invención, que pueden incluir sistemas que son bien conocidos por aquellas personas expertas en el arte, tales como las basadas en poloxámeros, micoesferas biodegradables, liposomas, suspensiones en aceites y/o emulsiones, pueden prepararse de acuerdo con técnicas estándar, por ejemplo como se describe por Leung *et al* en "*Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*" (*Drugs and the Pharmaceutical Sciences*; vol. 29), 2ª edición, eds. Robinson y Lee, Dekker (1987) en el capítulo 10, página 433, cuya divulgación en este documento se incorpora aquí por referencia.

Las composiciones de la invención pueden administrarse una o más veces al día (preferiblemente una vez, pero no más de dos veces, al día), independientemente del número de unidades individuales (formulaciones/composiciones) que se administran como parte de una "dosis".

Las formulaciones de la invención se administran a pacientes mamíferos (incluidos humanos), y, para compuestos de fórmula (I) en donde R^2 no es hidrógeno, se metabolizan luego en el cuerpo para formar compuestos de fórmula (I) en donde R^2 es hidrógeno, que son farmacológicamente activos.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se provee por consiguiente una formulación de la invención para uso como un producto farmacéutico.

En particular, los compuestos de fórmula (I) son, o se metabolizan luego de la administración para formar, inhibidores potentes de trombina,

35/10
X

por ejemplo, como puede demostrarse en las pruebas descritas en, *entre otros*, la solicitud internacional de patente No. PCT/SE01/02657, así como las solicitudes internacionales de patente WO 02/14270, WO 01/87879 y WO 00/42059, cuyas divulgaciones relevantes en tales documentos se incorporan aquí por referencia.

Por "profármaco de un inhibidor de trombina", incluimos compuestos que se metabolizan luego de la administración y forman un inhibidor de trombina, en una cantidad detectable experimentalmente, luego de la administración.

Por "ingrediente activo" y "sustancia activa" damos a entender el agente farmacéutico (que cubre inhibidor de trombina y sus profármacos) presente en la formulación.

Por lo tanto, se espera que las formulaciones de la invención sean útiles en aquellas afecciones en donde se requiere la inhibición de trombina, y/o afecciones donde es indicada la terapia anticoagulante, incluidas las siguientes:

El tratamiento y/o profilaxis de trombosis e hipercoagulabilidad en la sangre y/o tejidos de animales, incluido el hombre. Se sabe que la hipercoagulabilidad puede llevar a enfermedades tromboembólicas. Afecciones asociadas con hipercoagulabilidad y enfermedades tromboembólicas, que pueden mencionarse, incluyen resistencia a la proteína C activada, heredada o adquirida, tal como mutación de factor V (factor V Leiden), y deficiencias heredadas o adquiridas en antitrombina III, proteína C, proteína S, cofactor II de heparin. Otras afecciones conocidas por estar asociadas con hipercoagulabilidad y enfermedad tromboembólica incluyen anticuerpos antifosfolípidos en circulación (anticoagulante Lupus), homocisteinemia, trombocitopenia inducida por heparina y defectos en la fibrinólisis, así como síndromes de coagulación (por ejemplo coagulación intravascular diseminada (DIC)) y lesión vascular en general (por ejemplo, debida a cirugía).

El tratamiento de afecciones en donde hay un exceso indeseado de trombina sin signos de hipercoagulabilidad, por ejemplo, en enfermedades

136
/K/

neurodegenerativas tales como el mal de Alzheimer.

Estados patológicos particulares que pueden mencionarse incluyen el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de trombosis venosa (por ejemplo DVT) y embolismo pulmonar, trombosis arterial (por ejemplo, en infarto del miocardio, angina inestable, apoplejía basada en trombosis y trombosis arterial periférica), y embolismo sistémico usualmente de la aurícula durante la fibrilación auricular (por ejemplo fibrilación auricular no valvular) o del ventrículo izquierdo luego del infarto del miocardio transmural, o causada por deficiencia cardíaca congestiva; profilaxis de re-oclusión (es decir, trombosis) luego de la trombólisis, angioplastia transluminal percutánea (PTA) y operaciones de derivación coronaria; la prevención de re-trombosis luego de la microcirugía y cirugía vascular en general.

Otras indicaciones incluyen el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de coagulación intravascular diseminada causada por bacterias, trauma múltiple, intoxicación o cualquier otro mecanismo; tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con superficies ajenas en el cuerpo, tales como injertos vasculares, endoprótesis vasculares (*stents*), catéteres vasculares, válvulas protésicas mecánicas y biológicas o cualquier dispositivo médico; y tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con dispositivos médicos fuera del cuerpo tales como durante la cirugía cardiovascular usando una máquina cardio-pulmonar o en hemodiálisis; el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del síndrome disneico agudo del adulto e idiopático, fibrosis pulmonar luego del tratamiento con radiación o quimioterapia, choque septicémico, septicemia, respuestas inflamatorias, que incluyen, pero no se limitan a, edema, aterosclerosis aguda o crónica tales como enfermedad arterial coronaria y la formación de placas ateroscleróticas, enfermedad arterial cerebral, infarto cerebral, trombosis cerebral, embolismo cerebral, enfermedad arterial periférica, isquemia, angina (incluida angina inestable), lesión por reperfusión, restenosis luego de angioplastia trans-luminal percutánea (PTA) y cirugía de derivación de arteria coronaria.

La formulación de la presente invención puede comprender igualmente cualquier agente (s) antitrombótico con un mecanismo diferente de acción al de los compuestos de fórmula (I), tales como uno o más de los siguientes: los agentes antiplaquetarios ácido acetilsalicílico, ticlopidina y clopidogrel; receptor de tromboxano y/o inhibidores de sintetasa; antagonistas de receptor de fibrinógeno; miméticos de prostaciclina; inhibidores de fosfodiesterasa; antagonistas de receptor (P₂T) - ADP; e inhibidores de carboxipeptidasa U (CPU).

Compuestos de fórmula (I) que inhiben tripsina y/o trombina pueden ser asimismo útiles en el tratamiento de pancreatitis.

Por consiguiente, las formulaciones de la invención son indicadas en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de estas afecciones.

Las formulaciones de la invención son útiles en la administración de un compuesto de fórmula (I) o su sal a un paciente. Como los compuestos de fórmula (I), y sus sales, son útiles en la profilaxis y el tratamiento de trombosis, las formulaciones de la invención son igualmente útiles en el tratamiento de tal trastorno.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se provee un método de tratamiento de trombosis, método que comprende la administración de una formulación de la invención a una persona que sufre de, o susceptible a, dicha afección.

En todavía un aspecto adicional la presente invención provee una formulación de la invención en la manufactura de un medicamento para uso en el tratamiento de trombosis.

Para evitar dudas, por "tratamiento" incluimos el tratamiento terapéutico, así como la profilaxis, de una afección.

Las composiciones de la invención poseen la ventaja de que proveen una liberación modificada de los compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de estos compuestos, con el fin de obtener un efecto más uniforme y/o prolongado contra trombosis, y pueden, por lo tanto, proveer una dosificación más eficiente de ingrediente activo, preferiblemente no más de una o dos veces al día.

138


Composiciones de la invención pueden tener igualmente la ventaja de que pueden prepararse usando métodos establecidos de procesamiento farmacéutico y emplear materiales que están aprobados para uso en alimentos o productos farmacéuticos o de estado regulatorio similar.

Compuestos de fórmula (I) pueden prepararse usando los siguientes procedimientos.

Procedimientos Generales

Se realizó TLC en gel de sílice. El análisis HPLC quiral se llevó a cabo usando una columna 46 mm X 250 mm Chiralcel OD con una columna de guarda de 5 cm. La temperatura de la columna se mantuvo a 35°C. Se usó un caudal de 1.0 mL/min. Se utilizó un detector Gilson 115 UV a 228 nm. La fase móvil constaba de hexanos, etanol y ácido trifluoroacético y las proporciones apropiadas se listan para cada compuesto. Típicamente, el producto se disolvió en una cantidad mínima de etanol y ésta se diluyó con la fase móvil.

En las Preparaciones A – I más adelante, se realizó LC-MS/MS usando un instrumento HP-1100 equipado con un inyector CTC-PAL y una columna 5 Tm, 4x100 mm ThermoQuest, Hypersil BDS-C18. Se empleó un detector API-3000 (Sciex) MS. El caudal era de 1.2 mL/min y la fase móvil (gradiente) constaba de 10-90% acetonitrilo con 90-10% de 4 mM acetato de amonio acuoso, conteniendo ambos 0.2% ácido fórmico. De otro modo, se registraron espectros de masa de baja resolución (LRMS) usando un espectrómetro Micromass ZQ en modo iónico de cambio posneg ESI (rango de masa m/z 100-800); y espectros de masa de alta resolución (HRMS) se registraron usando un espectrómetro Micromass LTC en modo de ionización negativa ES (rango de masa m/z 100-1000) con Leucina Encefalina ($C_{29}H_{37}N_5O_7$) como estándar de masa interno.

Los espectros 1H NMR se registraron usando tetrametilsilano com

139
87

estándar interno.

Procesos para la síntesis de compuestos de fórmula (I) están contenidos en la Solicitud Internacional de Patente No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, fecha de prioridad más reciente 1 de diciembre de 2000, presentada el 30 de noviembre de 2001, publicada el 6 de junio de 2002)), cuya información relevante se incorpora aquí por referencia.

Preparación A: Preparación de Compuesto A

(i) 3-Cloro-5-metoxibenzaldehído

3,5-Dicloroanisol (74.0 g, 419 mmol) en THF (200 mL) se agregó gota a gota a metal magnesio (14.2 g, 585 mmol, pre-lavado con 0.5 N HCl) en THF (100 mL) a 25°C. Luego de la adición, se agregó gota a gota 1,2-dibromoetano (3.9 g, 20.8 mmol). La mezcla marrón oscura resultante se calentó a reflujo durante 3 h. La mezcla se enfrió a 0°C, y se agregó *N,N*-dimetilformamida (60 mL) en una porción. La mezcla se dividió en porciones con éter dietílico (3 x 400 mL) y 6N HCl (500 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para producir un aceite. Cromatografía de destello (2x) en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) produjo el compuesto del subtítulo (38.9 g, 54%) como un aceite amarillo.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.90 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 3.87 (s, 3H).

(ii) 3-Cloro-5-hidroxibenzaldehído

Una solución de 3-cloro-5-metoxibenzaldehído (22.8 g, 134 mmol; véase paso (i) más arriba) en CH_2Cl_2 (250 mL) se enfrió a 0°C. Se agregó gota a gota tribromuro de boro (15.8 mL, 167 mmol) durante 15 min. Después de agitar la mezcla de reacción durante 2 h, se agregó lentamente H_2O (50 mL). La solución se extrajo entonces con Et_2O (2 x 100 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se

18X140

concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) produjo el compuesto del subtítulo (5.2 g, 25%).

^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 9.85 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 3.68 (s, 1H)

(iii) 3-Cloro-5-difluorometoxibenzaldehído

Una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (7.5g, 48 mmol; véase paso (ii) más arriba) en 2-propanol (250 mL) y 30% KOH (100 mL) se calentó a reflujo. Mientras se agitaba, se hizo burbujear CHClF_2 en la mezcla de reacción durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió, se acidificó con 1N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Los orgánicos se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) produjo el compuesto del subtítulo (4.6 g, 46%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.95 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.60 (t, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H)

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$

Una solución de 3-cloro-5-difluorometoxibenzaldehído (4.6 g, 22.3 mmol; véase paso (iii) más arriba) en CH_2Cl_2 (200 mL) se enfrió a 0°C . Se agregaron ZnI_2 (1.8 g, 5.6 mmol) y cianuro de trimetilsililo (2.8 g, 27.9 mmol), y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura de la sala y se agitó durante 15 h. La mezcla se concentró parcialmente *in vacuo* proporcionando el compuesto del subtítulo como un líquido, el cual se usó directamente en el paso (v) más adelante, sin más purificación o caracterización.

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (6.82 g, asumir 22.3 mmol; véase paso (iv) más arriba) se agregó gota a gota a HCl/EtOH (500 mL). La

18741

mezcla de reacción se agitó 15 h, se concentró luego parcialmente *in vacuo* proporcionando el compuesto del subtítulo como un líquido, el cual se usó en el paso (vi) sin más purificación o caracterización.

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt (6.24 g. asumir 22.3 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en THF (250 mL), se agregó 0.5M H₂SO₄ (400 mL) y la reacción se agitó a 40°C durante 65 h, se enfrió y luego se concentró parcialmente *in vacuo* para retirar la mayor parte del THF. La mezcla de reacción se extrajo entonces con Et₂O (3 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido, el cual se usó en el paso (vii) sin más purificación o caracterización.

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt (6.25 g, asumir 22.3 mmol; véase paso (vi) más arriba) en 2-propanol (175 mL) y 20% KOH (350 mL) se agitó a temperatura de la sala 15 h. La reacción se concentró entonces parcialmente *in vacuo* para retirar la mayor parte del 2-propanol. La mezcla restante se acidificó con 1M H₂SO₄, se extrajo con Et₂O (3 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄) y se concentró *in vacuo* para producir un sólido. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₄OH concentrado (6:3:1) produjo la sal de amonio del compuesto del subtítulo. La sal de amonio se disolvió entonces en una mezcla de EtOAc (75 mL) y H₂O (75 mL) y se acidificó con 2N HCl. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera (50 mL), se secó (Na₂SO₄) y se concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (32 g, 57% de los pasos (iv) a (vii)).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, *J*_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.16 (s, 1H).

127142

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(S)CH(OAc)C(O)OH

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (3.2 g, 12.7 mmol; véase paso (vii) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (~2.0 g) en acetato de vinilo (125 mL) y MTBE (125 mL) se calentó a reflujo durante 48 h. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de Celita® y el depósito de filtrado se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró *in vacuo* y se sometió a cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:MeOH: NH₄OH concentrado (6:3:1) proporcionando las sales de amonio de los compuestos del subtítulo (a) y (b). Compuesto (a) como una sal se disolvió en H₂O, se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na₂O₄), se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (a) (1.2 g, 37%).

Para el compuesto del subtítulo (a)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, *J*_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (1.1 g, 4.4 mmol; véase paso (viii) más arriba) y H-Aze-Pab(Teoc) (véase solicitud internacional de patente WO 00/42059, 2.6 g, 5.7 mmol) en DMF (50 mL) a 0°C se agregó PyBOP (2.8 g, 5.3 mmol) y colidina (13 g, 10.6 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 h, y luego a temperatura de la sala durante 15 horas más. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* se sometió a cromatografía de destello en gel de sílice (3 x), eluyendo primero con CHCl₃:EtOH (9:1), luego con EtOAc:EtOH (20:1) y eluyendo finalmente con CH₂Cl₂:CH₃OH (95:5) para proporcionar el compuesto del subtítulo (1.0 g, 37%) como un sólido blanco.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, mezcla de rotámeros) δ 7.79-7.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.15-7.48 (m, 5H), 6.89 y 6.91 (t, *J*_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.12 y 5.20

184/43

(s, 1H), 4.75–4.85 (m, 1H), 3.97–4.55 (m, 6H), 2.10–2.75 (m, 2H), 1.05–1.15 (m, 2H). 0.09 (s, 9H)

MS (m/z) 611 (M + 1)⁺

(x) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.40 g, 0.65 mmol; véase paso (ix) más arriba), se disolvió en 20 mL de acetonitrilo y se agregó 0.50 g (6.0 mmol) de clorhidrato de O-metil hidroxilamina. La mezcla se calentó a 70°C durante 2 h. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre agua y acetato de etilo. La fase acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó. Rendimiento: 0.41 g (91%).

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃): δ 7.83 (bt, 1H), 7.37 (bs, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.47 (m, 2H), 4.4–4.2 (b, 1H), 4.17–4.1 (m, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 0.97 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

(xi) Compuesto A

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc) (0.40 g, 0.62 mmol; véase paso (x) más arriba), se disolvió en 5 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 30 min. TFA se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre acetato de etilo y NaHCO₃ (aq.). La fase acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó. El producto se secó por congelamiento de agua/acetonitrilo. No fue necesaria purificación. Rendimiento: 0.28 g (85%).

¹H-NMR (600 MHz; CDCl₃): δ 7.89 (bt, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.28 (d, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.13 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.51 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.80 (bs, 2H), 4.48 (dd, 1H), 4.43 (dd, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.89 (s,

144

3H), 3.68 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.40 (m, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz; CDCl_3): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.9, 170.8, 152.7, 152.6

HRMS calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{ClF}_2\text{N}_4\text{O}_5$ (M-H) $^-$ 495.1242, hallada 495.1247

Preparación B: Preparación de Compuesto B

(i) 2,6-Difluoro-4[(metilsulfinil)(metiltio)metil]benzonitrilo

(Metilsulfinil)(metiltio)metano (7.26g, 0.0584 mol) se disolvió en 100 mL de THF seco bajo argón y se enfrió a -78°C . Se agregó gota a gota butil litio en hexano (16 mL 1.6M, 0.0256 mol) agitando simultáneamente. La mezcla se agitó durante 15 min. Mientras tanto, una solución de 3,4,5-trifluorobenzonitrilo (4.0 g, 0.025 mmol) en 100 mL de THF seco se enfrió a -78°C bajo argón, y la primera solución se agregó a través de una cánula a la última solución durante un período de 35 min. Luego de 30 min., el baño de enfriamiento se retiró y, cuando la reacción había alcanzado la temperatura de la sala, se vertió en 400 mL de agua. El THF se evaporó y la capa acuosa restante se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase éter combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 2.0 g (30%).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.4-7.25 (m, 2H), 5.01 (s, 1H, diastereómero), 4.91 (s, 1H, diastereómero), 2.88 (s, 3H, diastereómero), 2.52 (s, 3H, diastereómero), 2.49 (s, 3H, diastereómero), 2.34 (s, 3H, diastereómero), 1.72 (amplio, 1H)

(ii) 2,6-Difluoro-4-formilbenzonitrilo

2,6-Difluoro-4[(metilsulfinil)(metiltio)metil]benzonitrilo (2.17 g, 8.32 mmol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 90 mL de THF y se agregó 3.5 mL de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se dejó a temperatura de la sala durante 3 días y, subsiguientemente, se vertió en 450 mL de agua. Siguió extracción tres veces con EtOAc y la fase éter combinada se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso y con salmuera, se secó

(Na₂SO₄) y se evaporó. Rendimiento: 1.36 g (98%). Se estableció la posición del grupo formilo mediante ¹³C NMR. La señal de los carbonos fluorinados a 162.7 ppm exhibió el patrón de acoplamiento esperado con dos constantes de acoplamiento en el orden de 260 Hz y 6.3 Hz, respectivamente, correspondientes a un acoplamiento *ipso* y a uno *meta* de los átomos de flúor.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.35 (s, 1H), 7.33 (m, 2H)

(iii) 2,6-Difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo

2,6-Difluoro-4-formilbenzonitrilo (1.36 g, 8.13 mmol; véase paso (ii) más arriba) se disolvió en 25 mL de metanol y se enfrió en baño helado. Se agregó borohidruro de sodio (0.307 g, 8.12 mmol) en porciones agitando simultáneamente, y la reacción se dejó durante 65 min. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre éter dietílico y bicarbonato de sodio acuoso. La capa de éter se lavó con más bicarbonato de sodio acuoso y salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo cristalizó prontamente y pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.24 g (90%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.24 (m, 2H), 4.81 (s, 2H), 2.10 (amplio, 1H)

(iv) 4-Ciano-2,6-difluorobencil metanosulfonato

A una solución helada de 2,6-difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo (1.24 g, 7.32 mmol; véase paso (iii) más arriba) y cloruro de metanosulfonilo (0.93 g, 8.1 mmol) en 60 mL de cloruro de metileno se agregó trietilamina (0.81 g, 8.1 mmol) agitando simultáneamente. Tras 3 h a 0°C, la mezcla se lavó dos veces con 1M HCl y una vez con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.61 g (89%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (m, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

27/146

(v) 4-Azid metil-2,6-difluorobenzonitril

Una mezcla de 4-ciano-2,6-difluorobencil metanosulfonato (1.61 g, 6.51 mmol; véase paso (iv) más arriba) y azida de sodio (0.72 g, 0.0111 mol) en 10 mL de agua y 20 mL de DMF se agitó a temperatura de la sala de un día para otro. El resultante se vertió seguidamente en 200 mL de agua y se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase éter combinada se lavó cinco veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Una pequeña muestra se evaporó para fines de NMR y el producto cristalizó. El resto se evaporó cuidadosamente, mas no hasta sequedad completa. Se asumió que el rendimiento (teóricamente 1.26 g) era casi cuantitativo, basado en NMR y HPLC analítica.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (m, 2H), 4.46 (s, 2H)

(vi) 4-Aminometil-2,6-difluorobenzonitrilo

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. A una suspensión de 520 mg de 10% Pd/C (50% humedad) en 20 mL de agua se agregó una solución de borohidruro de sodio (0.834 g, 0.0221 mol) en 20 mL de agua. Se presentó alguna evolución de gas. 4-Azidometil-2,6-difluorobenzonitrilo (1.26 g, 6.49 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en 50 mL de THF y se agregó a la mezcla acuosa en baño helado durante 15 min. La mezcla se agitó durante 4 h, tras lo cual se agregaron 20 mL de 2M HCl y la mezcla se filtró a través de Celita. La Celita se enjuagó con más agua y la fase acuosa combinada se lavó con EtOAc y, seguidamente, se hizo alcalina con 2M NaOH. Siguió extracción tres veces con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 0.87 g (80%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.20 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.51 (amplio, 2H)

(vii) 2,6-Difluoro-4-*tert*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo

147
147

Una solución de 4-aminometil-2,6-difluorobenzonitril (0.876 g, 5.21 mmol; véase paso (vi) más arriba) se disolvió en 50 mL de THF y se agregó di-*tert*-butil dicarbonato (1.14 g, 5.22 mmol) en 10 mL de THF. La mezcla se agitó durante 3.5 h. El THF se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó tres veces con 0.5 M HCl y agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 138 g (99%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.21 (m, 2H), 4.95 (amplio, 1H), 4.43 (amplio, 2H), 1.52 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,6-diF)(OH)

Una mezcla de 2,6-difluoro-4-*tert*-butoxicarbonilaminometilbenzonitril (138 g, 5.16 mmol; véase paso (vii) más arriba), clorhidrato de hidroxilamina (1.08 g, 0.0155 mol) y trietilamina (1.57 g, 0.0155 mol) en 20 mL de etanol se agitó a temperatura de la sala durante 36 h. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre agua y cloruro de metileno. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.43 g (92%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.14 (m, 2H), 4.97 (amplio, 1H), 4.84 (amplio, 2H), 4.40 (amplio, 2H), 1.43 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito por Judkins *et al*, *Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,6-diF)(OH) (1.32 g, 437 mmol; véase paso (viii) más arriba), anhídrido acético (0.477 g, 4.68 mmol) y 442 mg de 10% Pd/C (50% humedad) en 100 mL de ácido acético se hidrogenó a 5 atm de presión durante 3.5 h. La mezcla se filtró a través de Celita, se enjuagó con etanol y se evaporó. El residuo se secó por congelamiento de acetonitril y agua y unas cuantas gotas de etanol. El

189/48

producto del subtítulo pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.49 g (99%).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (m, 2H), 4.34 (s, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc)

A una solución de Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc (1.56 g, 5.49 mmol; véase paso (ix) más arriba) en 100 mL de THF y 1 mL de agua se agregó 2-(trimetilsilil)etil p-nitrofenil carbonato (1.67 g, 5.89 mmol). Una solución de carbonato de potasio (1.57 g, 0.0114 mol) en 20 mL de agua se agregó gota a gota durante 5 min. La mezcla se agitó de un día para otro. El THF se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre agua y cloruro de metileno. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con heptano/EtOAc = 2/1 produjo 1.71 g (73%) de compuesto puro.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (m, 2H), 4.97 (amplio, 1H), 4.41 (amplio, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

(xi) Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1.009 g, 235 mmol; véase paso (x) más arriba) se disolvió en 50 mL de EtOAc saturado con HCl(g). La mezcla se dejó durante 10 min., se evaporó y se disolvió en 18 mL de DMF, y luego se enfrió en baño helado. Se agregaron Boc-Aze-OH (0.450 g, 2.24 mmol), PyBOP (1.24 g, 2.35 mmol) y, finalmente, diisopropiletil amina (1.158 g, 8.96 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y luego se vertió en 350 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con heptano:EtOAc (1:3) produjo 1.097 g (96%) del compuesto deseado.

149

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 4.23 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.10 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

(xii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{Teoc})$

Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (0.256 g, 0.500 mmol; véase paso (xi) más arriba) se disolvió en 20 mL de EtOAc saturado con HCl(g) . La mezcla se dejó durante 10 min., y se evaporó y se disolvió en 5 mL de DMF. Se agregaron $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0.120 g, 0.475 mmol; véase Preparación A(viii) más arriba), PyBOP (0.263 g, 0.498 mmol) y, finalmente, diisopropiletil amina (0.245 g, 1.89 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y luego se vertió en 350 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con EtOAc produjo 0.184 g (60%) del compuesto deseado del subtítulo.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , mezcla de rotámeros) δ 7.55-7.45 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, rotámero mayor), 7.27 (m, 1H, rotámero menor), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, 1H, rotámero menor), 5.15 (s, 1H, rotámero mayor), 5.12 (m, 1H, rotámero menor), 5.06 (s, 1H, rotámero menor), 4.72 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámero mayor), 4.24 (m, 2H), 4.13 (m, 1H, rotámero mayor), 4.04 (m, 1H, rotámero menor), 3.95 (m, 1H, rotámero menor), 2.62 (m, 1H, rotámero menor), 2.48 (m, 1H, rotámero mayor), 2.22 (m, 1H, rotámero mayor), 2.10 (m, 1H, rotámero menor), 1.07 (m, 2H), 0.07 (m, 9H)

(xiii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe, Teoc})$

Una mezcla de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{Teoc})$ (64 mg, 0.099 mmol; véase paso (xii) más arriba) y clorhidrato de O-metil hidroxilamina (50 mg, 0.60 mmol) en 4 mL de acetonitrilo se

150
17

calentó a 70°C durante 3 h. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 58 mg (87%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.90 (bt, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.25-6.95 (m, 5H), 6.51 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.4-3.9 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.63 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.87 (amplio, 1H), 0.98 (m, 2H), 0.01(s, 9H)

(xiv) Compuesto B

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe, Teoc) (58 mg, 0.086 mmol; véase paso (xiii) más arriba) se disolvió en 3 mL de TFA, se enfrió en baño helado y se dejó reaccionar durante 2 h. El TFA se evaporó y el residuo se disolvió en EtOAc. La capa orgánica se lavó dos veces con carbonato de sodio acuoso y agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El residuo se secó por congelamiento de agua y acetonitrilo para producir 42 mg (92%) del compuesto del título.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (bt, 1H), 7.2-7.1 (m, 4H), 6.99 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.85-4.75 (m, 3H), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.29 (amplio, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.85 (amplio, 1H) ¹³C-NMR (100 MHz; CDCl₃): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.1, 169.8, 151.9

APCI-MS: (M + 1) = 533/535 m/z

Preparación C: Preparación de Compuesto C

(i) (2-Monofluoroetil) metanosulfonato

A una solución agitada magnéticamente de 2-fluoroetanol (5.0 g, 78.0 mmol) en CH₂Cl₂ (90 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó trietilamina (23.7 g, 234 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (10.7 g, 93.7 mmol). La mezcla

151

se agitó a 0°C durante 1.5 h, se diluyó con CH₂Cl₂ (100 mL) y se lavó con 2N HCl (100 mL). La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (50 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (75 mL), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (9.7 g, 88%) como un aceite amarillo, que se usó sin más purificación.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.76 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.64 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.52 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.43 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 3.09 (s, 3H).

(ii) 3-Cloro-5-monofluoroetoxibenzaldehído

A una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (8.2 g, 52.5 mmol; véase Preparación A(ii) más arriba) y carbonato de potasio (9.4 g, 68.2 mmol) en DMF (10 mL) bajo nitrógeno se agregó una solución de (2-monofluoroetil) metanosulfonato (9.7 g, 68.2 mmol; véase paso (i) más arriba) en DMF (120 mL) gota a gota a temperatura de la sala. La mezcla se calentó a 100°C durante 5 h y luego se agitó de un día para otro a temperatura de la sala. La reacción se enfrió a 0°C, se vertió en 2N HCl helado y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *in vacuo*. El aceite marrón se cromatografió en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) para proporcionar el compuesto del subtítulo (7.6 g, 71%) como un aceite amarillo.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.92 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 4.87 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.71 (t, *J* = 3 Hz, 1H), 4.33 (t, *J* = 3 Hz, 1H), 4.24 (t, *J* = 3 Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OTMS)CN

A una solución de 3-cloro-5-monofluoroetoxibenzaldehído (7.6 g, 37.3 mmol; véase paso (ii) más arriba) y yoduro de zinc (3.0 g, 938 mmol) en CH₂Cl₂ (310 mL) se agregó cianuro de trimetilsililo (7.4 g, 75.0 mmol) gota

147152

a gota a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 0°C durante 3 h y a temperatura de la sala de un día para otro. La reacción se diluyó con H₂O (300 mL), la capa orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (10.6 g, 94%) como un aceite marrón, que se usó sin purificación o caracterización previa.

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (100 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OTMS)CN (10.6 g, 5.8 mmol; véase paso (iii) más arriba) y la solución se agitó a 100°C durante 3 h. Luego de enfriar a temperatura de la sala, la reacción se enfrió aún más a 0°C, se basificó lentamente con 3N NaOH (~300 mL) y se lavó con Et₂O (3 x 200 mL). La capa acuosa se acidificó con 2N HCl (80 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL). Los extractos EtOAc combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (8.6 g, 98%) como un sólido amarillo pálido, que se usó sin más purificación.

R_f = 0.28 (90:8:2 CHCl₃:MeOH: NH₄OH concentrado)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(S)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (8.6 g, 34.5 mmol; véase paso (iv) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (4.0 g) en acetato de vinilo (250 mL) y MTBE (250 mL) se calentó a 70°C bajo nitrógeno durante 3 días. La reacción se enfrió a temperatura de la sala y la enzima se retiró por filtración a través de Celita®. El depósito de filtrado se lavó con EtOAc y el filtrado se concentró *in vacuo*. Cromatografía en gel

153

de sílice eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N}$ (90:8:2) produjo la sal trietilamina del compuesto del subtítulo (a) como un aceite amarillo. Adicionalmente, se obtuvo la sal trietilamina del compuesto del subtítulo (b) (4.0 g). La sal del compuesto del subtítulo (b) se disolvió en H_2O (250 mL), se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (b) (2.8 g, 32%) como un aceite amarillo.

Datos para el Compuesto del subtítulo (b):

$R_f = 0.28$ (90:8:2 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ concentrado)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

(vi) Compuesto C

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (818 mg, 3.29 mmol; véase paso (v) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregaron HAZE-Pab(OMe) $\cdot 2\text{HCl}$ (1.43 g, 4.27 mmol, véase solicitud internacional de patente WO 00/42059), PyBOP (1.89 g, 3.68 mmol) e IPEA (1.06 g, 8.23 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 h y, luego, a temperatura de la sala de un día para otro. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) y, en segundo lugar, con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (880 mg, 54%).

$R_f = 0.60$ (10:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , mezcla compleja de rotámeros) δ 7.58-7.60 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 2H), 6.95-6.99 (m, 1H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.99-4.51 (m, 7H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

154
154

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonil y/o carbonos de amidina) δ 173.3, 170.8, 152.5.

APCI-MS: $(M + 1) = 493 \text{ m/z}$.

Preparación de Compuesto D (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab)

Compuesto D

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.045 g, 0.074 mmol; véase Preparación A (ix) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 1 h. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento de agua/acetonitrilo para proporcionar 0.043 g (100%) del compuesto del subtítulo como su sal TFA.

^1H -NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámetros: δ 7.8-7.75 (m, 2H), 7.55-7.5 (m, 2H), 7.35 (m, 1H, rotámetro mayor), 7.31 (m, 1H, rotámetro menor), 7.19 (m, 1H, rotámetro mayor), 7.15 (m, 1H), 7.12 (m, 1H, rotámetro menor), 6.89 (t, 1H, rotámetro mayor), 6.87 (t, 1H, rotámetro menor), 5.22 (m, 1H, rotámetro menor), 5.20 (s, 1H, rotámetro mayor), 5.13 (s, 1H, rotámetro menor), 4.80 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.37 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.19 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.07 (m, 1H, rotámetro menor), 3.98 (m, 1H, rotámetro menor), 2.70 (m, 1H, rotámetro menor), 2.55 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.29 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.15 (m, 1H, rotámetro menor)

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámetros) δ 172.6, 172.5, 172.0, 171.7, 167.0

MS (m/z) 465 ($M-1$)⁻, 467 ($M+1$)⁺

Preparación de Compuesto E (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF))

Compuesto E

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81 mg, 0.127 mmol; véase Preparación B (xii) más arriba) se disolvió en 0.5 mL de

14655

cloruro de metileno y se enfrió en baño helado. Se agregó TFA (3 mL) y la reacción se dejó durante 75 min. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento de agua y acetonitrilo. El producto crudo se purificó por RPLC preparativa con CH₃CN:0.1M NH₄OAc (35:65) para obtener 39 mg (55%) del compuesto del título como su sal HOAc. Pureza: 99%.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD mezcla de rotámeros) δ 7.5-7.4 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, rotámero mayor), 7.28 (m, 1H, rotámero menor), 7.2-7.1 (m, 3H), 6.90 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, rotámero menor), 5.15 (s, 1H, rotámero mayor), 5.14 (m, 1H, rotámero menor), 5.07 (s, 1H, rotámero menor), 4.72 (m, 1H, rotámero mayor), 4.65-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámero mayor), 4.16 (m, 1H, rotámero mayor), 4.03 (m, 1H, rotámero menor), 3.95 (m, 1H, rotámero menor), 2.63 (m, 1H, rotámero menor), 2.48 (m, 1H, rotámero mayor), 2.21 (m, 1H, rotámero mayor), 2.07 (m, 1H, rotámero menor), 1.89 (s, 3H)

¹³C-NMR (75 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 171.9, 171.2, 165.0, 162.8, 160.4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

Preparación de Compuesto F (Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (940 mg, 3.78 mmol; véase Preparación C (v) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregaron HAze-Pab(Teoc)•HCl (2.21 g, 4.91 mmol), PyBOP (2.16 g, 4.15 mmol) y DIPEA (1.22 g, 9.45 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 h y, luego, a temperatura de la sala durante 4 h. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con CHCl₃:EtOH (15:1) y, en segundo lugar, con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del subtítulo (450 mg, 20%) una espuma blanca triturable.

17/156

Mp: 80-88°C

$R_f = 0.60$ (10:1 CHCl_3 :EtOH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , mezcla compleja de rotámeros) δ 7.79 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 1H), 6.93-6.99 (m, 2H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.75-4.80 (m, 2H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.95-4.55 (m, 8H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: $(M + 1) = 607$ m/z.

(ii) Compuesto F

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0.357 g, 0.589 mmol; véase paso (i) más arriba), se disolvió en 10 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 40 min. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento de agua/acetonitrilo para proporcionar 0.33 g (93%) del compuesto del título como su sal TFA.

^1H -NMR (600 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (d, 2H), 7.08 (s, 1H, rotámero mayor), 7.04 (s, 1H, rotámero menor), 6.99 (s, 1H, rotámero mayor), 6.95 (s, 1H), 6.92 (s, 1H, rotámero menor), 5.18 (m, 1H, rotámero menor), 5.14 (s, 1H, rotámero mayor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.73 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.35 (m, 1H, rotámero mayor), 4.21 (doblete de multipletes, 2H), 4.12 (m, 1H, rotámero mayor), 4.06 (m, 1H, rotámero menor), 3.99 (m, 1H, rotámero menor), 2.69 (m, 1H, rotámero menor), 2.53 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor).

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.8, 172.1, 167.4.

ESI-MS+: $(M+1) = 463$ (m/z)

Preparación de Compuesto G ($\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-pab(OH)}$)

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0.148 g, 0.24 mmol;

178/157

véase Preparación A paso (ix) más arriba), se disolvió en 9 mL de acetonitrilo y se agregó 0.101 g (1.45 mmol) de clorhidrato de hidroxilamina. La mezcla se calentó a 70°C durante 2.5 h, se filtró a través de Celita® y se evaporó. El producto crudo (0.145 g; 75% puro) se usó directamente en el siguiente paso sin más purificación.

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-pab(OH)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-pab(OH, Teoc) (0.145 g, 0.23 mmol; véase paso (i) más arriba), se disolvió en 0.5 mL de CH₂Cl₂ y 9 mL de TFA. La reacción se dejó avanzar durante 60 minutos. TFA se evaporó y el residuo se purificó usando HPLC preparativa. Las fracciones de interés se agruparon y se secaron por congelamiento (2x), proporcionando 72 mg (rendimiento de los dos pasos 62%) del compuesto del título.

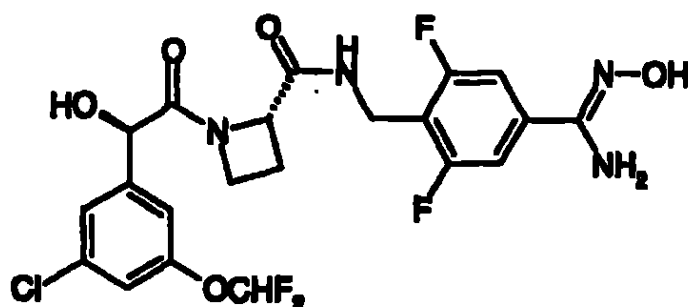
MS (m/z) 482 (M - 1)⁻; 484 (M + 1)⁺

¹H-NMR(400 MHz; CD₃OD): δ 7.58 (d, 2H), 7.33 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.89 (t, 1H rotámero mayor), 6.86 (t, 1H rotámero menor), 5.18 (s, 1H rotámero mayor, y m, 1H rotámero menor), 5.12 (s, 1H rotámero menor), 4.77 (m, 1H rotámero mayor), 4.42 (m, 2H), 4.34 (m, 1H rotámero mayor), 4.14 (m, 1H rotámero mayor), 4.06 (m, 1H rotámero menor), 3.95 (m, 1H rotámero menor), 2.66 (m, 1H rotámero menor), 2.50 (m, 1H rotámero mayor), 2.27 (m, 1H rotámero mayor), 2.14 (m, 1H rotámero menor)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.4, 172.3, 172.0, 171.4, 152.3, 152.1

Preparación de Compuesto H: Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-pab(2,6-diF)(OH)

149/158



(i) Boc-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)

Boc-(S)Aze-OH (1.14 g, 5.6 mmol) se disolvió en 45 mL de DMF. Se agregaron 4-aminometil-2,6-difluorobenzonitrilo (1.00 g, 5.95 mol, véase Ejemplo 1(xiv) más arriba), PyBOP (3.10 g, 5.95 mmol) y DIPEA (3.95 mL, 22.7 mmol) y la solución se agitó a temperatura de la sala durante 2 h. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió en porciones entre H₂O y EtOAc (75 mL cada uno). La fase acuosa se extrajo con 2 x 50 mL EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. Cromatografía de destello (SiO₂, EtOAc/heptano (3/1)) produjo el compuesto del subtítulo (1.52 g, 77%) como un aceite, el cual cristalizó en el refrigerador.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): δ 7.19 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 3.86 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 139 (s, 9H)

(ii) H-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) x HCl

Boc-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0.707 g, 2.01 mmol, véase paso (i) más arriba) se disolvió en 60 mL de EtOAc saturado con HCl(g). Después de agitar a temperatura de la sala durante 15 minutos, el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en CH₃CN/H₂O (1/1) se secó por congelamiento para producir el compuesto del subtítulo (0.567 g, 98%) como un polvo amorfo blancuzco.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): δ 7.49 (m, 2H), 4.99 (m, 1H), 4.58 (m, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.47 (m, 1H)

159
222

MS (m/z) 252.0 (M+1)⁺

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0.40 g, 1.42 mmol, véase Ejemplo 1(viii) más arriba) se disolvió en 10 mL de DMF y se agregaron H-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) x HCl (0.43 g, 1.50 mmol, véase paso (ii) más arriba) y PyBOP (0.779 g, 1.50 mmol), seguidos por DIPEA (1.0 mL, 5.7 mmol). Después de agitar a temperatura de la sala durante 2 h, el disolvente se evaporó. El residuo se dividió en porciones entre H₂O (200 mL) y EtOAc (75 mL). La fase acuosa se extrajo con 2 x 75 mL EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. Cromatografía de destello (SiO₂ EtOAc/heptano (4/1)) produjo el compuesto del subtítulo (0.56 g, 81 %) como un aceite.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotámetros: δ 7.43 (m, 2H), 7.31 (m, 1H, rotámetro mayor), 7.26 (m, 1H, rotámetro menor), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, rotámetro mayor), 6.86 (t, 1H, rotámetro menor), 5.14 (s, 1H, rotámetro mayor), 5.11 (m, 1H, rotámetro menor), 5.04 (s, 1H, rotámetro menor), 4.71 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.2-3.9 (m, 1H; y 1H, rotámetro menor), 2.62 (m, 1H, rotámetro menor), 2.48 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.21 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.09 (m, 1H, rotámetro menor)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonos carbonilo) δ 171.9, 171.8

MS (m/z) 484.0, 485.9 (M - 1)⁻, 486.0, 487.9 (M + 1)⁺

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0.555 g, 1.14 mmol, del paso (iii) más arriba) se disolvió en 10 mL de EtOH (95%). A esta solución se agregó clorhidrato de hidroxilamina (0.238 g, 3.42 mmol) y Et₃N (0.48 mL, 3.44 mmol). Después de agitar a temperatura de la sala durante 14 h, el disolvente se retiró y el residuo se

287/160

disolvió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera y H₂O y se secó sobre Na₂SO₄. El producto crudo se purificó por RPLC preparativa con CH₃CN:0.1 M NH₄OAc como eluyente, proporcionando el compuesto del título como un polvo amorfo (0.429 g, 72%) después de secamiento por congelamiento.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotámetros: δ 7.35-7.1 (m, 5H), 6.90 (t, 1H, rotámero mayor), 6.85 (t, 1H, rotámero menor), 5.15 (s, 1H, rotámero mayor), 5.12 (m, 1H, rotámero menor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 4.72 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámero mayor), 4.12 (m, 1H, rotámero mayor), 4.04 (m, 1H, rotámero menor), 3.94 (m, 1H, rotámero menor), 2.62 (m, 1H, rotámero menor), 2.48 (m, 1H, rotámero mayor), 2.22 (m, 1H, rotámero mayor), 2.10 (m, 1H, rotámero menor)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonilo y carbonos de amidina, rotámetros) δ 172.4, 171.9, 171.0, 152.3, 151.5

MS (m/z) 517.1, 519.0 (M - 1)⁻, 519.1, 521.0 (M + 1)⁺

Preparación de Compuesto J (Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH))

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (véase solicitud internacional de patente WO 97/02284, 92 mg, 0.197 mmol) se disolvió en 10 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante 10 min. El disolvente se evaporó y el residuo se mezcló con Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.188 mmol; véase Preparación C (v) más arriba), PyBOP (109 mg, 0.209 mmol) y, finalmente, diisopropiletil amina (96 mg, 0.75 mmol) en 2 mL de DMF. La mezcla se agitó durante 2 h y luego se vertió en 50 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo se sometió a cromatografía de destello en gel de sílice con EtOAc:MeOH (9:1). Rendimiento: 100 mg (87%).

207 161

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD. mezcla de rotámeros) δ 7.85-7.75 (m, 2H), 7.45-7.25 (m, 7H), 7.11 (m, 1H, rotámero mayor), 7.08 (m, 1H, rotámero menor), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.13 (bt, 1H), 5.25-5.05 (m, 3H), 4.77 (m, 1H, oculto parcialmente por la señal CD₃OH), 4.5-3.9 (m, 7H), 2.64 (m, 1H, rotámero menor), 2.47 (m, 1H, rotámero mayor), 2.25 (m, 1H, rotámero mayor), 2.13 (m, 1H, rotámero menor)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Clorhidrato de hidroxilamina (65 mg, 0.94 mmol) y trietilamina (0.319 g, 3.16 mmol) se mezclaron en 8 mL de THF y se sonicaron durante 1 h a 40°C. Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0.156 mmol; véase paso (i) más arriba) se agregó con 8 mL más de THF. La mezcla se agitó a 40°C durante 4.5 días. El disolvente se evaporó y el producto crudo se purificó por RPLC preparativa con CH₃CN:0.1M NH₄OAC (40:60). Rendimiento: 30 mg (38%). Pureza: 99%.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD. mezcla de rotámeros) δ 7.6-7.55 (m, 2H), 7.35-7.3 (m, 2H), 7.12 (m, 1H, rotámero mayor), 7.09 (m, 1H, rotámero menor), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.15 (triplete de multipletes, 1H), 5.15 (m, 1H, rotámero menor), 5.13 (s, 1H, rotámero mayor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 4.77 (m, 1H, rotámero mayor), 4.5-4.2 (m, 5H), 4.08 (m, 1H, rotámero mayor), 3.97 (m, 1H, rotámero menor), 2.66 (m, 1H, rotámero menor), 2.50 (m, 1H rotámero mayor), 2.27 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 172.8, 172.2, 171.4, 159.1, 158.9, 154.2.

APCI-MS: (M + 1) = 497/499 m/z

Métodos 1 y 2: Preparación de Sales de Compuesto A

Método 1: Método General para Preparación de Sal

El siguiente método genérico se empleó para preparar sales de Compuesto A: 200 mg de Compuesto A (véase Preparación A más arriba) se

27/162

disolvieron en 5 mL de MeOH. A esta solución se agregó una solución del ácido relevante (1.0 equivalente molar) disuelto en 5 mL de MeOH. Después de agitar durante 10 minutos a temperatura de la sala, el disolvente se retiró mediante un evaporador rotatorio. El material sólido restante se re-disolvió en 8 mL de acetonitrilo:H₂O (1:1). El secamiento por congelamiento produjo un material amorfo incoloro en cada caso.

Ácidos empleados:

(1S)-(+)-10-alcanforsulfónico

málico

ciclohexilsulfámico

fosfórico

dimetilfosfórico

p-toluenosulfónico

L-lisina

clorhidrato de L-lisina

sacarínico

metanosulfónico

clorhídrico

Los datos característicos apropiados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Sal	Mw ácido	Mw sal	LRMS	δ ppm (MeOD) H18, H19, H24 (véase estructura al final del Método 9 más adelante).
(1S)-(+)-10- canforsulfonato	232.20	729.20	230.9 495.1 497.0 727.3	7.57, 7.68, 3.97
maleato	116.07	612.97	114.8 495.1	7.45, 7.64, 3.89

204/163

			497.0	
ciclohexilsulfamato	179.24	676.14	177.9 495.1 496.9 674.3 676.1	7.44, 7.64, 3.89
fosfato	97.99	594.89	495.1 497.0 593.1	7.37, 7.61, 3.84
dimetilfosfato	126.05	622.95	124.9 495.1 497.0 621.2 623.0	7.50, 7.66, 3.92
p-toluenosulfonato	172.20	669.10	170.9 495.1 497.0	7.54, 7.71, 3.95
L-lisina	146.19	643.09	145.0 495.1 497.0	7.36, 7.60, 3.83
clorhidrato de L-lisina	182.65	679.55	495.1 497.0 531.1 (HCl)	7.36, 7.60, 3.83
sacarinato	183.19	680.09	181.9 495.1 497.0	7.44, 7.64, 3.89
metanosulfonato	96.11	593.01	495.1 497.0 591.2 593.1	7.57, 7.68, 3.97
clorhidrato	36.46	533.36	495.1 496.9 531.1 532.5 535.2	7.55, 7.67, 3.95

Todas las sales formadas en este Método fueron amorfas.

Método 2

Otras sales amorfas de Compuesto A se prepararon usando técnicas análogas a las descritas en Método 1 de más arriba, a partir de los siguientes ácidos:

ácido bromhídrico (sal 1:1)
ácido clorhídrico (sal 1:1)
ácido sulfúrico (sal 1:0.5)
ácido 1,2-etanodisulfónico (sal 1:0.5)
ácido 1S-alcanforsulfónico (sal 1:1)
ácido (+/-)-alcanforsulfónico (sal 1:1)
ácido etanosulfónico (sal 1:1)
ácido nítrico (sal 1:1)
ácido toluenosulfónico (sal 1:1)
ácido metanosulfónico (sal 1:1)
ácido p-xilenosulfónico (sal 1:1)
ácido 2-mesitilenosulfónico (sal 1:1)
ácido 1,5-naftalenosulfónico (sal 1:0.5)
ácido naftalenosulfónico (sal 1:1)
ácido bencenosulfónico (sal 1:1)
ácido sacarínico (sal 1:1)
ácido maleico (sal 1:1),
ácido fosfórico (sal 1:1)
ácido D-glutámico (sal 1:1)
ácido L-glutámico (sal 1:1)
ácido D,L-glutámico (sal 1:1)
L-arginina (sal 1:1)
L-lisina (sal 1:1)
clorhidrato de L-lisina (sal 1:1)
glicina (sal 1:1)
ácido salicílico (sal 1:1)

206 165

ácido tartárico (sal 1:1)

ácido fumárico (sal 1:1)

ácido cítrico (sal 1:1)

ácido L-(-)-málico (sal 1:1)

ácido D,L-málico (sal 1:1)

ácido D-glucónico (sal 1:1)

Método 3: Preparación de Compuesto Amorfo A, sal de ácido etanosulfónico

Compuesto A (203 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en etanol (3 mL) y se agregó ácido etanosulfónico (1 eq., 95%, 35 µL) a la solución. La mezcla se agitó durante unos cuantos minutos, y luego el disolvente se evaporó. El aceite resultante se suspendió en *iso*-octano y se evaporó a sequedad hasta que se obtuvo un material sólido. Finalmente, la sustancia se volvió a suspender en *iso*-octano y el disolvente se evaporó nuevamente, resultando en un sólido amorfo, seco, blanco. La sustancia se secó al vacío a 40°C de un día para otro.

Métodos 4 a 9: Preparación de Compuesto A Cristalino, sal de ácido etanosulfónico

Método 4: Cristalización de Material Amorfo

Compuesto Amorfo A, sal de ácido etanosulfónico (17.8 mg; véase Método 3 más arriba) se suspendió en metil *iso*-butil cetona (600 µL). Luego de 1 semana, se observaron agujas cristalinas, las cuales se extrajeron por filtración y se secaron por aire.

Métodos 5 a 7: Cristalizaciones de Reacción (sin Anti-disolvente)

Método 5

Compuesto A (277 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en metil *iso*-butil cetona (3.1 mL). Se agregó ácido etanosulfónico (1 eq., 95%, 48 µL). La precipitación de sal etanosulfonato amorfo ocurrió inmediatamente. Se agregó más metil *iso*-butil cetona (6 mL) y la lechada

207 166

se trató con ultrasonido. Finalmente, se agregó una tercera porción de metil *iso*-butil cetona (3.6 mL) y, a continuación, la lechada se dejó de un día para otro agitando simultáneamente (agitador magnético). Al día siguiente, la sustancia se había transformado en agujas cristalinas. La lechada se extrajo por filtración, se lavó con metil *iso*-butil cetona (0.5 mL) y se secó por aire.

Método 6

Compuesto A (236 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió a temperatura de la sala en metil *iso*-butil cetona (7 mL). Ácido etanosulfónico (1 eq., 41 μ L) se mezcló con 2 mL de metil *iso*-butil cetona en un frasco. La solución de Compuesto A se ensemilló con Compuesto cristalino A, sal de ácido etanosulfónico (véase Métodos 4 y 5 más arriba). Luego, se agregaron 250 μ L la solución metil *iso*-butil cetona de ácido etanosulfónico en porciones durante 45 minutos. La solución se ensemilló nuevamente, y se aumentó la temperatura a 30°C. Luego, se agregaron 500 μ L de la solución metil *iso*-butil cetona durante aproximadamente 1 hora. La lechada resultante se dejó de un día para otro antes de agregar una cantidad final de la solución metil *iso*-butil cetona/ácido durante 20 minutos. El frasco se enjuagó con 1.5 mL de metil *iso*-butil cetona, la cual se agregó a la lechada. Después de 6 horas más, los cristales se extrajeron por filtración, se lavaron con metil *iso*-butil cetona (2 mL) y se secaron bajo presión reducida a 40°C. Se obtuvo un total de 258 mg de sal cristalina, lo cual corresponde a un rendimiento de aproximadamente 87%.

Método 7

Compuesto A (2.36 g; véase Preparación A más arriba) se disolvió en metil *iso*-butil cetona (90 mL). Cristales semilla (10 mg) de Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (véase Métodos 4 a 6 más arriba) se agregaron a la solución, y luego se agregó ácido etanosulfónico (40 TL) en dos porciones. A continuación se agregaron otros cristales semilla (12 mg) y dos porciones de ácido etanosulfónico (2 x 20 μ L). La lechada se diluyó con metil *iso*-

167
2

butil cetona (15 mL) antes de continuar la adición de ácido etanosulfónico. Se agregó una cantidad total de 330 μ L ácido etanosulfónico, en porciones, durante 1 hora. Se agregó una pequeña cantidad de cristales semilla y, finalmente, la lechada se dejó de un día para otro agitando simultáneamente. Al día siguiente los cristales se extrajeron por filtración, se lavaron con metil *iso*-butil cetona (2 x 6 mL) y se secaron bajo presión reducida a 40°C. Después de secar, se obtuvo un total de 2.57 g de producto cristalino blanco, correspondiente a un rendimiento de 89%.

Métodos 8 y 9: Cristalizaciones de Reacción (con Anti-disolvente)

Método 8

Compuesto A (163 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en *iso*-propanol (1.2 mL). La solución se calentó a 35°C. Se agregó ácido etanosulfónico (28 μ L). Luego, se agregó acetato de etilo (4.8 mL) y la solución se ensemilló con Compuesto cristalino A, sal de ácido etanosulfónico (véase Métodos 4 a 7 más arriba). La cristalización se inició casi inmediatamente. La lechada se dejó durante alrededor de 80 minutos a 35°C antes de que se le permitiera enfriar a temperatura ambiente (21°C). Dos horas más tarde, los cristales se extrajeron por filtración, se lavaron tres veces con acetato de etilo (3 x 0.4 mL), y se secaron bajo presión reducida a 40°C. Se obtuvo un total de 170 mg producto cristalino del título, lo cual corresponde a un rendimiento de aproximadamente 82%.

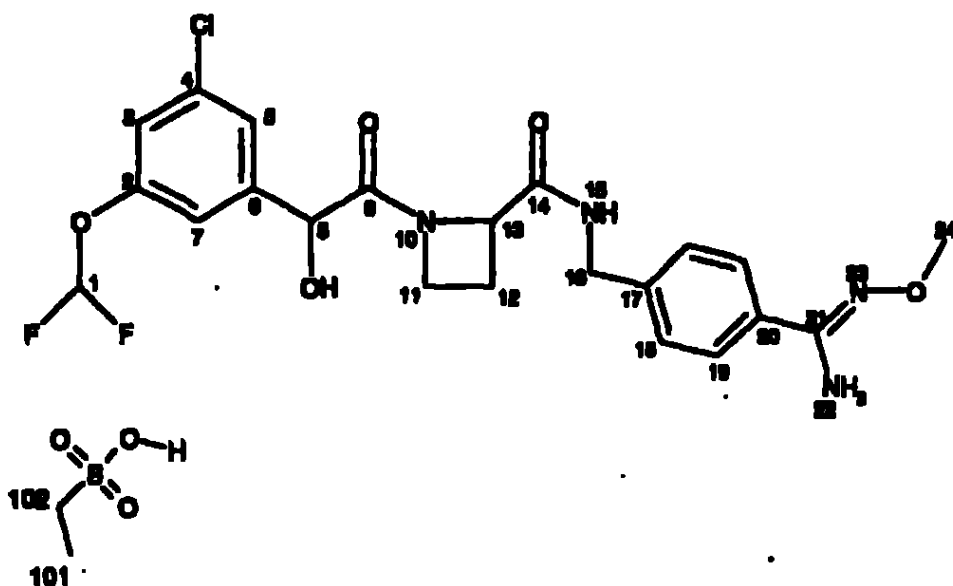
Método 9

Compuesto A (20.0 g; véase Preparación A más arriba) se disolvió en *iso*-propanol (146.6 mL) a 40°C y se agregó ácido etanosulfónico (3.46 mL, 95%, 1 eq.) a la solución. A la solución clara resultante se agregaron cristales semilla de Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (50 mg; véase Métodos 4 a 8 más arriba). Seguidamente, se agregó acetato de etilo (234 mL) durante 10 minutos. La solución resultante, levemente opaca se ensemilló una vez más (70 mg) y se dejó durante una hora a 40°C agitando simultáneamente para permitir que se iniciara la cristalización. Luego de

204/68

esto, se agregó un total de 352 mL de acetato de etil a una velocidad constante durante una hora. Cuando se hubo agregado la totalidad del acetato de etilo, la lechada se dejó durante 1 hora, antes de enfriarse a 21°C durante 2 horas. Se dejó continuar la cristalización durante 1 hora a 21°C antes de extraer los cristales por filtración, se lavó dos veces con acetato de etilo (50 mL + 60 mL) y, finalmente, se secó bajo presión reducida a 40°C de un día para otro. Se obtuvo un total de 21.6 g de una sal cristalina blanca, correspondiente a un rendimiento de aproximadamente 90%.

Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico se caracterizó por NMR en la siguiente forma: 23 mg de la sal se disolvió en metanol deuterado (0.7 mL). Se usó una combinación de experimentos NMR 1D (^1H , ^{13}C y NOE selectiva) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC). Todos los datos estaban en excelente concordancia con la estructura teórica de la sal, indicada más adelante. La molécula existe en dos conformaciones en metanol. Basado en la integral del pico asignado a H5 (conformador dominante) y el pico asignado a H5' (otro conformador), se encontró que la proporción entre los dos conformadores era 70:30. No pudo observarse H22 puesto que estos protones estaban en intercambio rápido con el disolvente CD_3OD .



Tanto la resonancia de protones como la de carbono correspondiente a la posición 1 se fracti nan debido al acoplamiento de espines con los dos

240 169

núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acoplamiento son $^2J_{HF}=73$ Hz y $^1J_{CF}=263$ Hz.

La asignación de desplazamiento químico 1H y ^{13}C NMR y las correlaciones protón-protón se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Átomo No.	Tipo	Desplazamiento ^{13}C / ppm ^a	Desplazamiento 1H / ppm ^b	J_{HH}/Hz y
1	CH	117.5 ^c	6.90 (t)	73 ($^2J_{HF}$)
1'		117.5 ^c	6.88 (t)	
2	C	153.5		
2'		153.5		
3	CH	120.0	7.15 (s)	
3'		119.7	7.13 (s)	
4	C	136.2		
4'		135.9		
5	CH	125.0	7.36 (s)	
5'		124.9	7.31 (s)	
6	C	144.5		
6'		145.3		
7	CH	117.3	7.20 (s)	
7'		117.2	7.15 (s)	
8	CH	72.0	5.20 (s)	
8'		74.0	5.12 (s)	
9	CO	173.1		
9'		173.8		
11	CH ₂	51.6	a:4.38 (m)	
			b:4.21 (m)	
11'		49.0	a:4.06 (m)	
			b:3.99 (m)	

27/170

12	CH ₂	21.7	a:2.55 (m) b:2.29 (m)	
12'		23.2	a:2.70 (m) b:2.15 (m)	
13	CH	63.1	4.80 (m)	
13'		66.2	5.22 (m)	
14	CO	172.9		
14'		173.6		
15	NH		8.76 (t, br)	5.2
15'			8.79 (t, br)	5.2
16	CH ₂	43.5	4.59 (Patrón AB) 4.46 (Patrón AB)	15.9 15.9
16'		43.6	4.53 (Patrón AB) 4.49 (Patrón AB)	15.9 15.9
17	C	146.9		
17'		147.0		
18	CH	129.1	7.56 (d)	7.8
18'		129.1	7.57 (d)	7.8
19	CH	129.2	7.67 (d)	7.8
19'		129.4	7.70 (d)	7.8
20	C	124.9		
20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.3		
22	NH ₂		No observado	
24	CH ₃	64.8	3.96 (s)	
101	CH ₃		1.28 (t)	7.4
102	CH ₂		2.77 (m)	7.4

^aRelativo a la resonancia del disolvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del disolvente a 3.30 ppm.

272/191

^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplote, br=amplio, d=dobleto

^dObtenido en el experimento gCOSY.

^cLa resonancia es un tripleto debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor. ¹J_{CF}=263 Hz.

HRMS calculada para C₂₄H₂₉ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 605.1284, hallada 605.1296.

Cristales de Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (obtenida mediante uno o más de los Ejemplos 4 a 9 más arriba) se analizaron por XRPD y los resultados se tabulan a continuación (Tabla 3) y se muestran en Figura 1.

Tabla 3

valor d (Å)	Intensidad (%)	Intensidad
16.5	10	m
12.2	74	vs
11.0	4	w
9.0	33	s
8.3	3	vw
7.6	6	w
6.4	4	w
6.2	12	m
6.0	7	m
5.9	10	m
5.5	15	m
5.4	100	vs
5.1	7	m
4.66	29	s
4.60	36	s
4.31	57	s
4.25	18	m
4.19	20	m
4.13	12	m
4.00	12	m

2/3/72

3.87	13	m
3.83	6	w
3.76	7	m
3.72	6	w
3.57	9	m
3.51	7	m
3.47	5	w
3.39	3	vw
3.31	11	m
3.26	10	m
3.21	8	m
3.16	4	w
3.03	8	m
2.78	4	w
2.74	5	w
2.67	3	vw
2.56	5	w
2.50	5	w
2.46	7	m
2.34	4	w
2.21	5	w
2.00	3	vw
1.98	3	vw

DSC mostró una endoterma con una temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de *ca.* 131°C. TGA mostró una disminución en masa de *ca.* 0.2% (p/p) alrededor del análisis DSC del punto de fusión repetido con una muestra de contenido más bajo de disolvente, mostrado a una temperatura de iniciación de fusión de *ca.* 144°C.

Método 10:

Preparación de Compuesto Amorfo A, sal de ácido bencenosulfónico

Compuesto A (199 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en etanol (2 mL). Ácido bencenosulfónico (1 eq. 90%, 70mg) se disolvió en etanol (1 mL) en un frasco. La solución de etanol del ácido se agregó a la

24173

solución de Compuesto A y el frasco se enjuagó con 1 mL de etanol, el cual se agregó luego a la mezcla. La mezcla se agitó durante unos cuantos minutos y luego el etanol se evaporó hasta que se formó un aceite. Se agregó acetato de etilo (3 mL) y el disolvente se evaporó nuevamente a sequedad. Se formó un sólido amorfo.

Métodos 11 a 13: Preparación de Compuesto Cristalino A, sal de ácido bencenosulfónico

Método 11: Cristalización de Material Amorfo

Compuesto Amorfo A sal de ácido bencenosulfónico (20.7 mg; véase Método 10 más arriba) se suspendió en acetato de etilo (600 TL). Después de 5 días, se observaron agujas cristalinas en la lechada.

Métodos 12 y 13: Cristalizaciones de Reacción

Método 12

Compuesto A (128 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en acetato de etilo (3 mL). La solución se sembró con la lechada de Método 11 más arriba. A continuación se agregó ácido bencenosulfónico (1 eq., 90%, 45 mg). La precipitación de sal de ácido bencenosulfónico ocurrió inmediatamente. Se agregó *iso*-propanol a la lechada (0.8 mL) y la mezcla se sembró de nuevo. Dos días después, la sustancia se había transformado en agujas cristalinas. La lechada se extrajo por filtración, se lavó con acetato de etilo (3 x 0.2 mL) y se secó durante un corto tiempo bajo vacío a 40°C. Se obtuvo un total de aproximadamente 140 mg de sólido blanco.

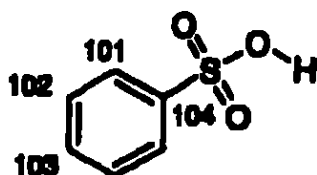
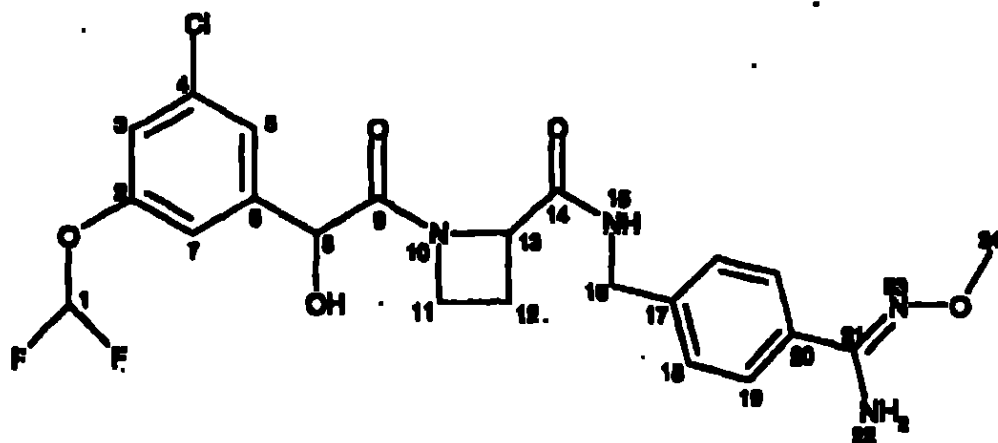
Método 13

Compuesto A (246 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en *iso*-propanol (1.52 mL). Se agregó ácido bencenosulfónico (88 mg, 90%). A la solución clara, se agregó acetato de etilo (3 mL), y luego la mezcla se sembró para iniciar la cristalización. Después de 1 hora, se agregó más acetato de etil (2.77 mL). Finalmente, la lechada se dejó cristalizar de un

2x17A

día para otro antes de extraer los cristales por filtración, se lavó con acetato de etilo (3 x 0.3 mL) y se secó a 40°C bajo vacío. Se obtuvo un total de 279 mg de sal, lo cual corresponde a un rendimiento de aproximadamente 86%.

Compuesto A, sal de ácido bencenosulfónico se caracterizó por NMR en la siguiente forma: 20 mg de la sal se disolvieron en metanol deuterado (0.7 mL). Se usó una combinación de experimentos NMR 1D (^1H , ^{13}C y NOE selectiva) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC). Todos los datos estaban en excelente concordancia con la estructura teórica de la sal, indicada más adelante. La molécula existe en dos conformaciones en metanol. Basado en la integral del pico asignado a H12 (conformador dominante) y el pico asignado a H12' (otro conformador), se encontró que la proporción entre los dos conformadores era 70:30. No pudo observarse H22 puesto que estos protones estaban en intercambio rápido con el disolvente CD_3OD .



Tanto la resonancia de protones como la de carbono correspondiente a la posición 1 se fraccionan debido al acoplamiento de espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acoplamiento son $^2J_{\text{HF}}=74 \text{ Hz}$ y $^1J_{\text{CF}}=260 \text{ Hz}$.

La asignación de desplazamiento químico ^1H y ^{13}C NMR y las

2/6/75

correlaciones protón-protón se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Átomo No.	Tipo	Desplazamiento ^{13}C / ppm ^a	Desplazamiento ^1H /ppm ^b y	$J_{\text{HH'}}$ /Hz
1	CH	117.5 ^e	6.89 (t)	74 ($^2J_{\text{HF}}$)
1'		117.5 ^e	6.87 (t)	
2	C	153.5		
2'		153.5		
3	CH	120.1	7.15 (s)	
3'		119.7	7.12 (s)	
4	C	136.2		
4'		135.9		
5	CH	125.1	7.35 (s)	
5'		124.9	7.31 (s)	
6	C	144.5		
6'		145.3		
7	CH	117.3	7.20 (s)	
7'		117.2	7.14 (s)	
8	CH	72.8	5.20 (s)	
8'		74.0	5.12 (s)	
9	CO	173.1		
9'		173.8		
11	CH ₂	51.6	a:4.37 (m) b:4.20 (m)	
11'		49.0	a:4.05 (m) b:3.98 (m)	
12	CH ₂	21.7	a:2.53 (m) b:2.28 (m)	
12'		23.2	a:2.69 (m) b:2.14(m)	

712
170

13	CH	63.1	4.79 (m)	
13'		66.2	5.22 (m)	
14	CO	172.9		
14'		173.6		
15	NH		8.75 (t, br)	5.3
15'			8.78 (t, br)	5.3
16	CH ₂	43.5	4.59 (AB-pattem)	16.0 y 5.2
			4.44 (Patrón AB)	16.0 y 4.8
16'		43.6	4.51 (Patrón AB)	16.0
			4.46 (Patrón AB)	16.0
17	C	146.9		
17'		147.0		
18	CH	129.2	7.54 (d)	8.3
18'		129.2	7.56 (d)	8.3
19	CH	129.3	7.66 (d)	8.3
19'		129.4	7.69 (d)	8.3
20	C	124.9	-	
20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.4		
22	NH ₂		No observado	
24	CH ₃	64.8	3.95 (s)	
101	CH	126.9	7.81 (m)	
102	CH	129.1	7.41 (m)	
103	CH	131.2	7.42 (m)	
104	C	146.4		

^aRelativo a la resonancia del disolvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del disolvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplete, br=amplio, d=dobleto

^dObtenido en el experimento gCOSY.

^eLa resonancia es un tripleto debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor. ¹J_{CF}=2603 Hz.

^fConectividad difícil de determinar debido al traslapamiento entre

D.F. 197

resonancia 102 y 103

HRMS calculada para $C_{28}H_{29}ClF_2N_4O_8S$ (M-H)⁻ 653.1284, hallada 653.1312.

Cristales de Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (obtenida mediante uno o más de los Ejemplos 11 a 13 más arriba) se analizaron por XRPD y los resultados se tabulan a continuación (Tabla 5) y se muestran en Figura 2.

Tabla 5

valor d (Å)	Intensidad (%)	Intensidad
14.2	12	m
12.6	55	s
10.2	49	s
7.5	8	m
6.4	5	w
6.3	30	s
6.1	5	w
5.9	100	vs
5.7	20	m
5.4	9	m
5.3	11	m
5.1	10	m
4.96	3	vw
4.83	27	s
4.73	72	vs
4.54	23	s
4.50	10	m
4.35	28	s
4.30	38	s
4.24	24	s
4.17	28	s
4.09	60	vs
4.08	61	vs

26/9/98

3.96	29	s
3.91	15	m
3.77	22	s
3.62	11	m
3.52	20	m
3.31	44	s
3.19	8	m
3.15	11	m
3.09	8	m
3.00	7	m
2.89	3	vw
2.86	4	w
2.79	7	m
2.76	6	w
2.72	5	w
2.59	6	w
2.56	9	m
2.54	9	m
2.49	7	m
2.38	8	m
2.16	4	w
2.03	3	vw

DSC mostró una endoterma con una temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de *ca.* 152°C. TGA mostró una disminución en masa de *ca.* 0.1% (p/p) alrededor del punto de fusión.

Método 14:

Preparación de Compuesto Amorfo A, sal de ácido *n*-propanosulfónico

Compuesto A (186 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en *iso*-propanol (1.39 mL) y se agregó ácido *n*-propanosulfónico (1 eq., 95%, 39 TL). Se agregó acetato de etilo (5.6 mL) y el disolvente se evaporó hasta que se formó un sólido amorfo seco.

Métodos 15 y 16: Preparación de Compuesto Cristalino A, sal de ácido *n*-

propanosulfónicoMétodo 15: Cristalización de Material Amorfo

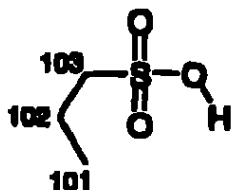
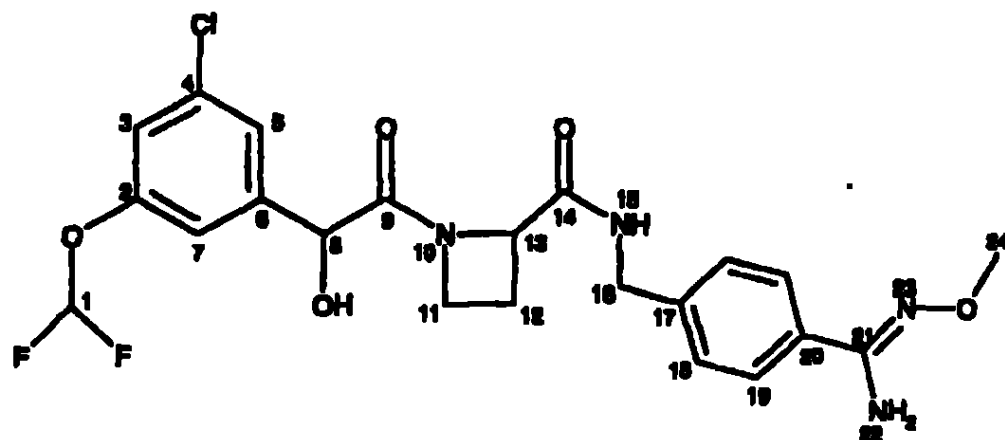
Compuesto Amorfo A, sal de ácido *n*-propanosulfónico (20 mg; véase Método 14 más arriba) se disolvió en *iso*-propanol (60 TL) y se agregó *iso*-propil acetato (180 TL). Después de tres días se observaron agujas cristalinas.

Método 16: Cristalización de Reacción

Compuesto A (229 mg; véase Preparación A más arriba) se disolvió en *iso*-propanol (1.43 mL). Se agregó ácido *n*-propanosulfónico (1 eq., 95%, 48 TL). Se agregó acetato de etilo (2 mL), y seguidamente la solución se ensemilló con sal cristalina de Método 15 más arriba. Se agregó más acetato de etilo (5 mL) y la lechada se dejó cristalizar de un día para otro. Los cristales se extrajeron por filtración, se lavaron con acetato de etilo (3 x 0.3 mL) y se secaron bajo vacío a 40°C.

Compuesto A, sal de ácido *n*-propanosulfónico se caracterizó por NMR en la siguiente forma: 13 mg de la sal se disolvieron en metanol deuterado (0.7 mL). Se usó una combinación de experimentos NMR 1D (^1H , ^{13}C) y 2D (gCOSY). Todos los datos estaban en excelente concordancia con la estructura teórica de la sal, indicada más adelante. La molécula existe en dos conformaciones en metanol. Basado en la integral del pico asignado a H12 (conformador dominante) y el pico asignado a H12' (otro conformador), se encontró que la proporción entre los dos conformadores era 65:35. No pudo observarse H22 puesto que estos protones estaban en intercambio rápido con el disolvente CD_3OD .

22-100



Tanto la resonancia de protones como la de carbono correspondiente a la posición 1 se fraccionan debido al acoplamiento de espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acoplamiento son $^2J_{HF}=74$ Hz y $^1J_{CF}=260$ Hz.

La asignación de desplazamiento químico 1H y ^{13}C NMR y las correlaciones protón-protón se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

Átomo No.	Tipo	Desplazamiento ^{13}C / ppm ^a	Desplazamiento 1H /ppm ^b y	J_{HH}/Hz
1	CH	117.5 ^c	6.89 (t)	74 ($^2J_{HF}$)
1'		117.5 ^c	6.88 (t)	
2	C	153.5		
2'		153.5		
3	CH	120.0	7.16 (s)	
3'		119.7	7.13 (s)	
4	C	136.2		
4'		135.9		

222 121

5	CH	125.1	7.36 (s)	
5'		124.9	7.31 (s)	
6	C	144.5		
6'		145.3		
7	CH	117.3	7.20 (s)	
7'		117.2	7.16 (s)	
8	CH	72.9	5.20 (s)	
8'		74.1	5.12 (s)	
9	CO	173.1		
9'		173.8		
11	CH ₂	51.6	a:4.37 (m) b:4.20 (m)	
11'		49.0	a:4.06 (m) b:3.98 (m)	
12	CH ₂	21.7	a:2.53 (m) b:2.29 (m)	
12'		23.2	a:2.69 (m) b:2.15 (m)	
13	CH	63.1	4.80 (m)	
13'		66.2	5.22 (m)	
14	CO	172.9		
14'		173.8		
15	NH		8.75 (t, br)	5.5
15'			8.79 (t, br)	5.5
16	CH ₂	43.5	4.59 (Patrón AB)	16.0 y 6.6
		•	4.45 (Patrón AB)	16.0 y 5.3
16'		43.6	4.51 4.50	
17	C	146.9		
17'		147.0		

18	CH	129.1	7.54 (d)	8.5
18'		129.2	7.57 (d)	8.5
19	CH	129.2	7.67 (d)	8.5
19'		129.4	7.69 (d)	8.5
20	C	124.9	-	
20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.4		
22	NH ₂		No observado	
24	CH ₃	64.7	3.96 (s)	
101	CH	13.7	1.0 (t)	
102	CH	19.6	1.78 (m)	
103	CH	54.6	2.75 (m)	

^aRelativo a la resonancia del disolvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del disolvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplote, br=amplio, d=doblete

^dObtenido en el experimento gCOSY.

^eLa resonancia es un tripleto debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor. ¹J_{CF}=260 Hz.

HRMS calculada para C₂₅H₃₁ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 619.1441, hallada 619.1436.

Cristales de Compuesto A, sal de ácido *n*-propanosulfónico (obtenida mediante uno o más de los Ejemplos 15 y 16 más arriba) se analizaron por XRPD y los resultados se tabulan a continuación (Tabla 7) y se muestran en Figura 3.

22/103

Tabla 7

valor d (Å)	Intensidad (%)	Intensidad
14.0	4	w
12.4	87	vs
10.0	30	s
8.0	3	vw
7.5	7	m
7.0	0.6	vw
6.7	1	vw
6.4	1	vw
6.2	12	m
6.1	3	vw
5.8	100	vs
5.7	11	m
5.5	3	vw
5.4	5	w
5.3	5	w
5.2	2	vw
5.1	3	vw
4.94	3	vw
4.78	21	s
4.68	42	s
4.51	10	m
4.49	7	m
4.40	5	w
4.32	10	m
4.29	10	m
4.25	22	s
4.19	14	m
4.14	15	m
4.07	23	s
4.04	20	m
3.94	16	m
3.88	10	m
3.73	15	m
3.65	2	vw
3.59	3	vw

22/10/04

3.48	18	m
3.28	23	m
3.12	4	w
3.06	3	vw
2.97	6	w
2.84	2	vw
2.81	3	vw
2.76	2	vw
2.73	3	vw
2.70	2	vw
2.57	2	vw
2.54	6	w
2.51	6	w
2.46	8	m
2.42	2	vw
2.39	3	vw
2.36	3	vw
2.32	2	vw
2.14	3	vw
2.01	2	vw

DSC mostró una endoterma con una temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de *ca.* 135°C. TGA no mostró disminución en masa alrededor del punto de fusión.

Método 17

Método 17-A: Preparación de Compuesto Amorfo A sal de ácido n-butanossulfónico

Compuesto Amorfo A (277 mg) se disolvió en IPA (1.77 ml) y se agregó ácido butanosulfónico (aprox. 1 eq. 70 µL). Se agregó acetato de etilo (6 ml) y el disolvente se evaporó hasta que se formó un sólido amorfo seco.

Método 17-B: Preparación de Compuesto Cristalino A sal de ácido

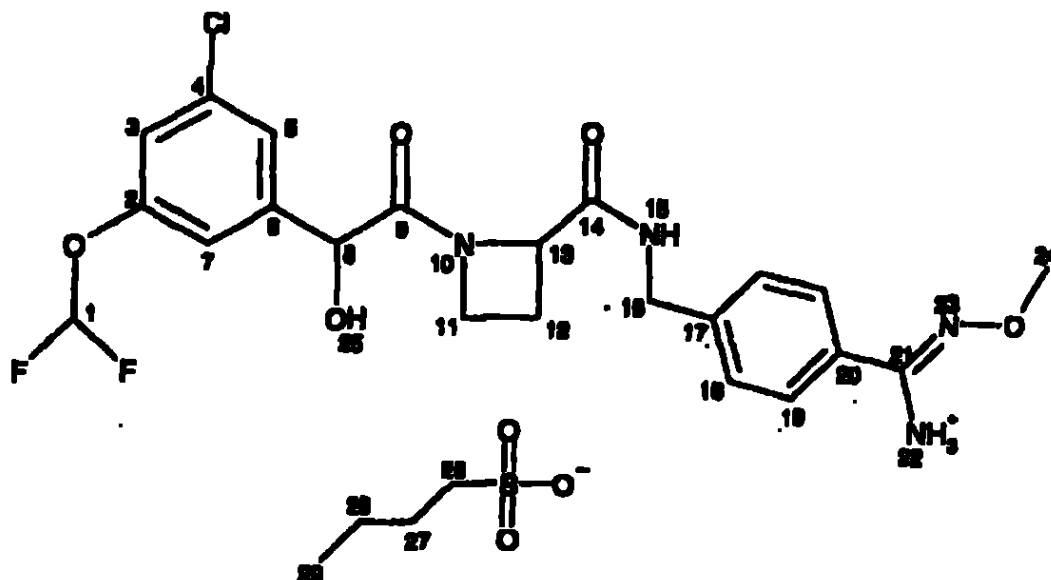
220185

butanosulfónico

Compuesto Amorfo A sal de ácido butanosulfónico (71.5 mg; véase Preparación más arriba) se suspendió en acetato de etilo (500 μ l) de un día para otro. Los cristales se extrajeron por filtración y se secaron por aire.

Compuesto A, sal de ácido butanosulfónico se caracterizó por NMR en la siguiente forma: 21.6 mg de la sal se disolvieron en dimetilsulfóxido deuterado (0.7 ml) y se investigaron con espectroscopia ^1H y ^{13}C NMR.

Los espectros son muy similares a otras sales del mismo compuesto y están en excelente concordancia con la estructura mostrada a continuación. La mayoría de las resonancias en los espectros están presentes como conjuntos de dos picos, debido a la lenta rotación alrededor del enlace C9-N10, lo cual resulta en dos atropisómeros que existen simultáneamente en la solución. Esto se muestra para otras sales del mismo compuesto.



Los dos núcleos de flúor en la posición 1 dan lugar a resonancias fraccionadas para el protón y el carbono en esa posición. Las constantes de acoplamiento son $^2J_{\text{HF}}=73$ Hz y $^1J_{\text{CF}}=258$ Hz.

Los desplazamientos químicos para los protones y carbonos se presentan en Tabla 1. Los protones en la posición 22 y 24 no se detectan debido al

intercambi químico. Existe un promontorio muy amplio entre 8 y 9 ppm en el espectro de protones correspondiente a estos protones.

Tabla 8

Asignación del desplazamiento químico ^1H y ^{13}C NMR de Compuesto A sal n-butanosulfonato en dimetilsulfóxido deuterado a 25°C

Átomo No.	Tipo	Desplazamiento ^{13}C / ppm ^a	Desplazamiento ^1H /ppm ^b y multiplicidad ^c	J_{HH}/Hz
1	CHF	116.3 ^d	7.29 (t)	73($^2J_{\text{HF}}$)
1'	2	116.3 ^d	7.28 (t)	73($^2J_{\text{HF}}$)
2	C	151.5	na	na
2'		151.3	na	na
3	CH	118.0	7.25 (t) ^e	nd
3'		117.6	7.21 (t) ^e	nd
4	C	133.8	na	na
4'		133.4	na	na
5	CH	123.8	7.34 (t) ^e	nd
5'		123.6	7.25 (t) ^e	nd
6	C	144.5	na	na
6'		145.2	na	na
7	CH	116.3	7.19 (t) ^e	nd
7'		116.1	7.12 (t) ^e	nd
8	CH	70.9	5.13 (s)	na
8'		71.2	4.99 (s)	na
9	CO	170.6	na	na
9'		171.1	na	na
11	CH ₂	50.0	a:4.24 (m) b:4.12 (m)	nd
11'		46.9	3.85 (m)	nd
12	CH ₂	20.5	a:2.41 (m) b:2.10 (m)	nd
12'		21.7	a:2.60 (m) b:2.02 (m)	nd
13	CH	61.2	4.65 (dd)	5.6 y 8.9
13'		63.9	5.12 (m)	nd
14	CO	170.2	na	Na
14'		171.0	na	na

107

16	CH ₂	41.8	438 (m)	nd
16'		42.0	438 (m)	nd
17	C	144.7	na	na
18	CH	127.5	7.44 (d)	8.2
		127.6	7.44	nd
19	CH	127.8	7.66 (d)	8.2
20	C	125.1	na	na
21	C	157.9	Na	na
24	CH ₃	63.3	3.83 (s)	na
24'		63.3	3.82 (s)	na
26	CH ₂	51.4	2.41 (m)	nd
27	CH ₂	27.3	1.52 (m)	nd
28	CH ₂	21.7	1.30 (m)	nd
29	CH ₃	14.0	0.83 (t)	7.3

^aRelativo a la resonancia del disolvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del disolvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplote, br=amplio, d=doblete

^dLa resonancia es un tripleto debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor F1. ¹J_{CF}=258 Hz.

^eEl acoplamiento ⁴J_{HH} con los *meta*-protones no está completamente resuelto.

na=no aplicable, nd=no determinado

HRMS calculada para C₂₆H₃₂ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 633.1597, hallada 633.1600

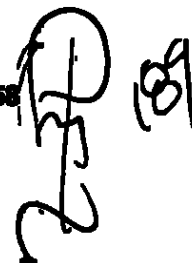
Cristales de Compuesto A, sal de ácido n-butanesulfónico (obtenida como se describe más arriba en Método 17-B) se analizaron por XRPD y los resultados se tabulan a continuación (Tabla 9) y se muestran en Figura 4.

Tabla 9

valor d (Å)	Intensidad (%)	Intensidad
143	8	m

29/188

12.8	81	vs
10.3	44	s
8.2	4	w
7.7	13	m
6.7	2	vw
6.4	8	m
6.2	18	m
6.0	100	vs
5.8	29	s
5.6	4	w
5.4	11	m
5.3	16	m
5.1	15	m
4.98	6.5	w
4.91	34	s
4.76	56	s
4.57	20	m
4.42	13	m
4.36	19	m
4.30	45	s
4.18	42	s
4.13	88	vs
4.01	34	s
3.92	28	s
3.82	18	m
3.64	6.6	w
3.58	16	m
3.47	5	w
3.44	6	w
3.38	12	m
3.35	32	s
3.32	22	s
3.29	12	m
3.20	8	m
3.17	9	m
3.02	12	m
2.90	6	w



2.81	3.9	vw
2.75	3	vw
2.64	3.5	vw
2.59	10	m
2.57	8	m
2.50	4	w
2.45	5	w
2.40	6	w
2.31	3	vw

DSC mostró una endoterma con una temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de ca. 118°C y TGA mostró una pérdida de peso de 0.04 %.

Método 18: Preparación de sales de Compuesto B

Método 18-A: Método General para la Preparación de la Sal

El siguiente método genérico se empleó para preparar sales de Compuesto B: 200 mg de compuesto B (véase Preparación B más arriba) se disolvió en 5 mL de MIBK (metil isobutil cetona). A esta solución se agregó una solución del ácido relevante (1.0 ó 0.5 equivalente molar, como se indica en Tabla 10) se disolvió en 1.0 mL de MIBK. Después de agitar durante 10 minutos a temperatura de la sala, se retiró el disolvente mediante un evaporador rotatorio. El material sólido restante se re-disolvió en alrededor de 8 mL de acetonitrilo:H₂O (1:1). El secamiento por congelamiento produjo un material amorfo incoloro en cada caso.

Ácido empleado:

Esilato (ácido etanosulfónico)

Besilato (ácido bencenosulfónico)

Ciclohexilsulfamato

Sulfato

Bromuro

p-Toluenosulfonato

2-Naftalenosulfonato

190

Hemisulfato

Metanosulfonato

Nitrato

Clorhidrato

Datos característicos apropiados se muestran en Tabla 10

Tabla 10

Sal	Mw ácido	Mw sal	MS ES-
Esilato	110.13	643.01	108.8 531.1 641.0
Besilato	158.18	691.06	156.8 531.1 689.2
Ciclohexil-sulfamato	179.24	712.12	177.9 531.2 710.4
Sulfato	98.08	630.96	531.1
Bromuro	80.91	613.79	531.2 613.1
p-Toluenosulfonato	172.20	705.08	170.9 531.1 703.1
2-Naftalenosulfonato	208.24	741.12	206.9 531.1 739.3

232/191

Hemisulfato	98.07	1163.8 (1:2) 630.85 (1:1)	531.1 631.0
Metanosulfonato	96.11	628.99	531.1 627.1
Nitrato	63.01	595.89	531.0 594.0
Clorhidrato	36.46	569.34	531.0 569.0

Todas las sales formadas en este Ejemplo eran amorfas.

Método 18-B

Otras sales amorfas de Compuesto B se elaboraron usando técnicas análogas a las descritas en Método 18-A más arriba para los siguientes ácidos:

1,2-etanodisulfónico (0.5 sal)

1S-alcanforsulfónico

(+/-)-alcanforsulfónico

p-xilenosulfónico

2-mesitilenosulfónico

sacarina

maleico

fosfórico

D-glutámico

L-arginina

L-lisina

L-lisina * HCl

Método 18-C: Preparación de Compuesto Amorfo B, sal de ácido hemi-1,5-

233192

naftalenodisulfónico

Compuesto Amorfo B (110.9 mg) se disolvió en 2.5 mL 2-propanol y se agregó 0.5 equivalente de tetrahidrato de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico (disuelto en 1mL 2-propanol). La muestra se agitó de un día para otro. Sólo se observaron pequeñas partículas (amorfas) o gotas de aceite por el microscopio. La muestra se evaporó a sequedad.

Método 18-D: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

El experimento de cristalización se llevó a cabo a temperatura ambiente. Compuesto Amorfo B (0.4 gramo) se disolvió en etanol (1.5 mL) y se agregó 0.5 eq de tetrahidrato de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico (135 gramos, 10 % en etanol). A continuación se agregó heptano (0.7 mL) hasta que la solución se volvió levemente nubosa. Después de alrededor de 15 minutos la solución se volvió turbia. Luego de alrededor de 30 minutos se obtuvo una lechada de consistencia delgada y se agregó más heptano (1.3 mL). La lechada se dejó entonces de un día para otro para maduración. Para diluir la lechada espesa, se agregó una mezcla de etanol y heptano (1.5 mL y 1.0 mL respectivamente). Luego de alrededor de 1 hora se filtró la lechada y los cristales se lavaron con una mezcla de etanol y heptano (1.5:1) y, finalmente, con heptano puro. Los cristales se secaron a temperatura ambiente en 1 día. Los cristales secos pesaron 0.395 g.

Método 18-E: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

Compuesto Amorfo B (1.009 gr) se disolvió en 20 mL 2-propanol + 20 mL acetato de etilo. Se agregaron 351.7 mg de tetrahidrato de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, disuelto en 20 mL 2-propanol, gota a gota. Ocurrió precipitación en alrededor de 5 minutos. La lechada se agitó de un día para otro y luego se filtró.

Método 18-F: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-

23/193

1,5- naftalenodisulfónico

430.7 mg de la sal de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico se disolvió en 30 mL 1-propanol. La solución se calentó a ebullición con el fin de disolver la sustancia. La solución se dejó de un día para otro a temperatura ambiente para cristalización y luego los cristales se extrajeron por filtración.

Método 18-G: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5- naftalenodisulfónico

El líquido madre de Método 18-F se evaporó y el resto sólido (61.2 mg) se disolvió en 6 mL acetonitrilo/1-propanol, proporción 2:1. La solución se dejó cristalizar de un día para otro a temperatura ambiente y luego los cristales se extrajeron por filtración.

Método 18-H: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

La muestra de Método 18-C se disolvió en alrededor de 2 mL metanol. Etanol (alrededor de 3 mL) se agregó como anti-disolvente a temperatura ambiente y se agregaron semillas. No ocurrió cristalización, de modo que se evaporaron los disolventes (cerca de la mitad de la cantidad) y se agregó una nueva porción de etanol (alrededor de 2 mL) y semillas. Se formaron partículas cristalinas, cuando se agitó a temperatura ambiente durante la noche.

Método 18-I: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5- naftalenodisulfónico

Compuesto Amorfo B (104.1 mg) se disolvió en 2-propanol y se agregó 1 equivalente de tetrahidrato de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico, disuelto en 2-propanol. En total, la cantidad de 2-propanol era de alrededor de 2.5 mL. La solución se agitó a 44°C durante alrededor de 80 minutos y se formó un precipitado. Las partículas eran cristalinas de acuerdo con microscopía de luz polarizada. La muestra se filtró.

4194
23

Método 18-J: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

Compuesto B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico (56.4 mg) se disolvió en 1.5 mL metanol. Se agregó metil etil cetona (3 mL). Se agregaron semillas a la solución y se inició la cristalización. Los cristales se extrajeron por filtración, se lavaron con metil etil cetona y se secaron por aire.

Método 18-K: Preparación de Compuesto Cristalino B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

Compuesto Amorfo B (161,0 mg) se disolvió en 3.5 mL 1-butanol y la solución se calentó a 40°C. En otro vaso de pico se disolvieron 57.4 mg de tetrahidrato de ácido naftaleno-disulfónico en 3 mL 1-butanol. Se agregaron un par de gotas de la solución ácida a la solución de compuesto B. Luego se agregaron semillas a la solución y después de 2 horas se agregó el resto de la solución ácida (a 40°C) lentamente. A continuación la temperatura se disminuyó lentamente a temperatura de la sala y el experimento se dejó bajo agitación de un día para otro. La lechada se filtró, se lavó con 1-butanol y se secó bajo vacío a 44°C durante 2 horas. El rendimiento fue del 83%.

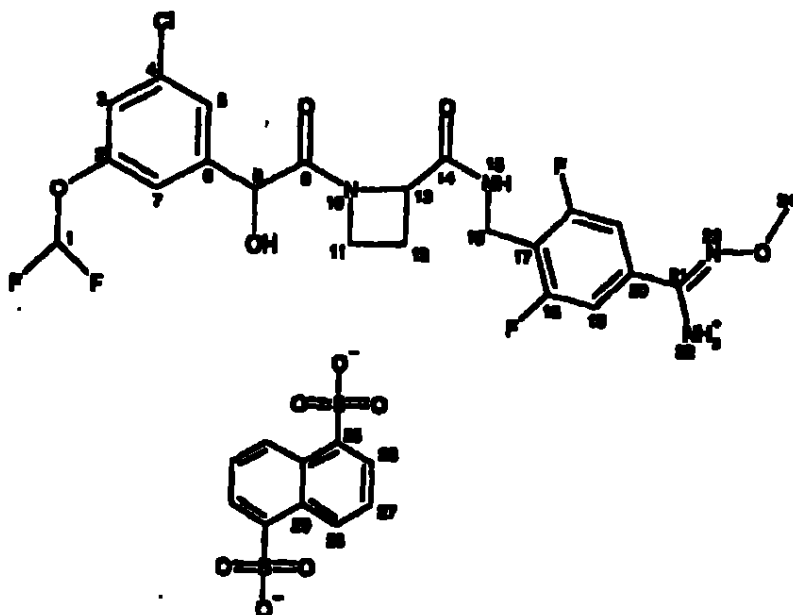
Caracterización

Cristales de Compuesto B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico, obtenidos mediante el Método 18-D más arriba, se caracterizaron por NMR en la siguiente forma: 21.3 mg de la sal se disolvieron en metanol deuterado, 0.7 ml se investigó con espectroscopía NMR. Se usó una combinación de experimentos NMR 1D (^1H , ^{13}C y NOE selectiva) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC).

Todos los datos estaban en excelente concordancia con la estructura propuesta, indicada más adelante. Todos los carbonos y los protones unidos a los carbonos están asignados. Los protones unidos a heteroátomos se intercambiaron por deuterio del disolvente y no se detectan. La mayoría de

236195

las resonancias en los espectros 1D ^1H y ^{13}C NMR están presentes como conjuntos de dos picos. La razón de esto es una lenta rotación alrededor del enlace C9-N10, que resulta en dos atropisómeros que existen simultáneamente en la solución. El experimento 1D NOE es una prueba de ello. Cuando se irradia una resonancia de un atropisómero, la saturación se transfiere al pico correspondiente del otro atropisómero. Las resonancias correspondientes al ión contrario de 1,5-naftalenodisulfonato no muestran atropisomerismo.



Hay dos átomos de flúor en la molécula. Éstos dan lugar a resonancias fraccionadas para algunos protones y carbonos. Las resonancia de protones y carbonos correspondiente a la posición 1 están fraccionadas debido al acoplamiento de espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acoplamiento son $^2J_{\text{HF}}=73$ Hz y $^1J_{\text{CF}}=263$ Hz. Además, la resonancia de protones correspondiente a H19 es un doblete distorsionado con $^3J_{\text{HF}}=6.9$ Hz debido al acoplamiento de espines con los núcleos de flúor en la posición 18. Las resonancias de los carbonos correspondientes a C17, C18, C19 y C20 exhiben también acoplamientos con estos núcleos de flúor. Las resonancias C17 y C20 son tripletes con $^2J_{\text{CF}}=19$ Hz y $^3J_{\text{CF}}=11$ Hz, respectivamente. La resonancia C18 es un doblete de dobletes con constantes de acoplamiento $^1J_{\text{CF}}=251$ Hz y $^3J_{\text{CF}}=8$ Hz. La resonancia C19 es un multiplete.

237/196

Comparando las magnitudes de las integrales para las resonancias correspondientes al ión contrario del 1,5-naftalenodisulfonato y el compuesto madre produce la relación estequiométrica de un solo ión contrario del 1,5-naftalenodisulfonato cristalizado con dos moléculas del compuesto madre.

La asignación del desplazamiento químico ^1H y ^{13}C NMR y las correlaciones protón-protón se muestran en Tabla 11.

Tabla 11

Átomo No.	Tipo	Desplaz. ^{13}C / ppm ^a	Desplaz. ^1H /ppm ^b y multiplicidad ^c	J_{HH}/Hz	Correlación a través del enlace a $^1\text{H}^d$
1	CHF	117.5 ^e	6.91 (t)	73 ($^2J_{\text{HF}}$)	nd
1'	²	117.5 ^e	6.87 (t)	73 ($^2J_{\text{HF}}$)	nd
2	C	153.5	na	na	na
2'		153.3	na	na	na
3	CH	120.0	7.14 (t) ⁿ	nd	5, 7
3'		119.6	7.11 (t) ⁿ	nd	5', 7'
4	C	136.1	na	na	na
4'		135.8	na	na	na
5	CH	125.0	7.31 (t) ⁿ	nd	3, 7
5'		124.9	7.28 (t) ⁿ	nd	3', 7'
6	C	144.4	na	na	na
6'		145.3	na	na	na
7	CH	117.2	7.16 (t) ⁿ	nd	3, 5
7'		117.1	7.12 (t) ⁿ	nd	3', 5'
8	CH	72.9	5.15 (s)	na	nd
8'		73.6	5.07 (s)	na	nd
9	CO	173.0	na	na	na
9'		173.5	na	na	na

238197

11	CH ₂	51.5	a:4.29 (m) b:4.13	nd	12, 13
11'		48.6	(m) a:4.01 (m) b:3.93 (m)	nd	12', 13'
12	CH ₂	21.7	a:2.46(m) b:2.17	nd	11, 13
12'		22.8	(m) a:2.61 (m) b:2.03 (m)	nd	11', 13'
13	CH	62.8	4.70 (dd)	6.0 y	12
13'		65.8	5.14 (dd)	9.4 5.6 y 9.1	12'
14	CO	172.4	na	na	na
14'		173.2	na	na	na
16	CH ₂	32.3	4.51 (m)	nd	nd
16'		32.5	4.51 (m)	nd	nd
17	C	121.0 ^f	na	na	na
18	CF	162.8 ^g	na	na	na
19	CH	112.7 ⁱ	7.35 (d)	6.9 (³ J _{HF})	nd
20	C	127.9 ^k	na	na	na
21	C	160.0	na	na	na
21'		159.9	na	na	na
24	CH ₃	64.8	3.93 (s)	na	nd
24'		64.8	3.92 (s)	na	nd
25	C	142.4	na	na	na
26	CH	126.8	8.16 (d)	7.2	27, 28
27	CH	125.9	7.54 (dd)	8.6 y 7.2	26, 28
28	CH	131.0	8.97 (d)	8.6	26, 27
29	C	131.1	na	na	na

^aRelativo a la resonancia del disolvente a 49.0 ppm.^bRelativo a la resonancia del disolvente a 3.30 ppm.^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplete, br=ampli , d=dobleto

237/198

^dObtenido en el experimento gCOSY.

^eLa resonancia es un triplete debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor. F1 $^1J_{CF}=263$ Hz.

^fLa resonancia es un triplete debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor. F18. $^2J_{CF}=19$ Hz.

^gLa resonancia es un doblete de dobletes debido al acoplamiento de los dos núcleos de flúor F18.

$^1J_{CF}=251$ Hz y $^3J_{CF}=8$ Hz.

ⁱLa resonancia es un multiplete debido al acoplamiento con los dos núcleos de flúor F18.

^kLa resonancia es un triplete debido al acoplamiento con los núcleos de flúor F18. $^3J_{CF}=11$ Hz.

ⁿEl acoplamiento $^4J_{HH}$ con los meta-protones no está completamente resuelto.

na=no aplicable, nd=no determinado

Cristales de Compuesto B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico (obtenidos mediante el Método 18-I más arriba, se analizaron por XRPD y los resultados se tabulan más adelante (Tabla 12) y se muestran en Figura 5.

Tabla 12

valor d (Å)	Intensidad (%)	Intensidad
18.3	99	vs
12.5	22	s
9.9	22	s
9.1	67	vs
8.0	18	m
7.5	17	m
6.8	37	s
6.7	59	s
6.1	39	s

2.9.9.9 199

6.0	21	s
5.6	66	vs
5.5	98	vs
4.94	48	s
4.56	59	s
4.39	35	s
4.27	33	s
4.13	81	vs
4.02	87	vs
3.86	88	vs
3.69	69	vs
3.63	100	vs
3.57	49	s
3.48	53	s
3.23	35	s
3.19	43	s
3.16	38	s

DSC mostró una endoterma con una temperatura extrapolada de iniciación de fusión de *ca.* 183 °C y TGA mostró una pérdida de peso de 0.3 % entre 25-110 °C.

Abreviaturas

Ac = acetilo

APCI = ionización química a presión atmosférica (en relación con MS)

API = ionización a presión atmosférica (en relación con MS)

aq. = Acuoso

Aze(&(S)-Aze) = (S)-azetidina-2-carboxilato (a menos que se especifique lo contrario)

Boc = *tert*-butiloxycarbonilo

br = amplio (en relación con NMR)

CI = Ionización química (en relación con MS)

d = día(s)

d = doblete (en relación con NMR)

DCC = dicitclohexil carbodiimida

24/200

dd	= doblete de dobletes (en relación con NMR)
DIBAL-H	= Hidruro de di-isobutilalumini
DIPEA	= diisopropiletilamina
DMAP	= 4-(<i>N,N</i> -dimetil amino) piridina
DMF	= <i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	= dimetilsulfóxido
DSC	= calorimetría de barrido diferencial
DVT	= trombosis de vena profunda
EDC	= clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
eq.	= equivalentes
ES	= electrospray (electroaspersión)
ESI	= interfaz de electroaspersión
Et	= Etilo
éter	= éter dietílico
EtOAc	= acetato de etilo
EtOH	= etanol
Et ₂ O	= éter dietílico
HATU	= hexafluorofosfato de <i>O</i> -(azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HBTU	= [hexafluorofosfato de <i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -benzotriazol-1-il)uronio]
HCl	= ácido clorhídrico, gas de cloruro de hidrógeno o sal clorhidrato (dependiendo del contexto)
Hex	= hexanos
HOAc	= ácido acético
HPLC	= cromatografía en líquido de alto rendimiento
LC	= Cromatografía en líquido
m	= multiplete (en relación con NMR)
Me	= metilo
MeOH	= metanol
min.	= minuto(s)
MS	= espectroscopía de masa
MTBE	= metil <i>tert</i> -butil éter
NMR	= resonancia magnética nuclear
OAc	= acetato
Pab	= <i>para</i> -amidinobencilamino

27/29

H-Pab	= <i>para</i> -amidinobencilamina
Pd/C	= paladio sobre carbón
Ph	= fenilo
PyBOP	= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
q	= cuartete (en relación con NMR)
QF	= fluoruro de tetrabutylammonio
rt/RT	= temperatura de la sala
s	= singlete (en relación con NMR)
t	= triplete (en relación con NMR)
TBTU	= [tetrafluoroborato de <i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -(benzotriazol-1-il)uronio]
TEA	= trietilamina
Teoc	= 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo
TEMPO	= 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoloxi o radical libre
TFA	= ácido trifluoroacético
TGA	= análisis termogravimétrico
THF	= tetrahidrofurano
TLC	= cromatografía de capa delgada
UV	= ultravioleta

Prefijos *n*-, *s*-, *i*-, *t*- y *tert*- tienen sus significados usuales: normal, secundario, *iso*, y terciario.

La invención se ilustra pero en ninguna forma se limita, por los siguientes Ejemplos. A menos que se especifique lo contrario, los polímeros HPMC se obtienen de Shin-Etsu (marca registrada METOLOSE™). Para iota-carragenina el proveedor era Fluka para todos los Ejemplos excepto los Ejemplos 11 y 12 (cuando el proveedor era CP-Kelco). Grados específicos y sus equivalentes USP se indican a continuación (una vez solamente, en la primera ocasión en que se divulgan).

Método General de Prueba

Se probaron tres tabletas individuales para liberación del

24/3/02

medicamento en 900ml de medio usando un aparato de disolución USP 2(paleta +cesta¹) a 50 rpm y 37°C. El medio de disolución usado era 0.1 M ácido clorhídrico (pH 1) y 0.1 M solución amortiguadora de fosfato de sodio (pH 6.8). La cuantificación en línea se realizó usando el sistema de fibra óptica C Technologies con 220 nm como la longitud de onda analítica cuando 0.1 M HCl se utilizó como el medio de disolución y con 260 nm como la longitud de onda analítica cuando la solución amortiguadora de fosfato pH 6.8 se usó como el medio de disolución. Como longitud de onda de referencia se utilizó 350 nm con ambos medios. Durante las dos primeras horas del análisis, el valor de liberación se midió cada 15 minutos, y luego cada hora para el resto del análisis.

[¹ Una cesta cuadrangular, hecha a la medida, de malla de alambre, soldada en una de sus caras superiores angostas al extremo de una varilla de acero. La varilla se pasa a través de la tapa del recipiente de disolución y se fija mediante dos tuercas de teflón, 3.2cm del centro del recipiente. El borde inferior del fondo de la cesta se ajusta para que esté 1cm más arriba de la paleta. La cesta se orienta a lo largo de la corriente de flujo, con la tableta bajo prueba en posición vertical sobre su borde].

Ejemplo 1

Compresión directa Compuesto A con HPMC 10000 cPs y HPMC 50 cPs, proporción 50: 50.

La sustancia activa y los materiales excipientes se mezclaron en una tina vibratoria. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

	Peso	Cantidad
Compuesto A	50.5 mg	20.0 %
HPMC 10 000 cPs	100.0 mg	39.5%
HPMC 50 cPs	100.0 mg	39.5 %

244203

Estearilfumarato de sodio	2.5 mg	1.0%
---------------------------	--------	------

Datos de Liberación

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	7	1
30	11	2
45	14	3
60	17	4
120	27	7
180	35	10
240	42	13
360	55	18
480	65	23
600	74	28
720	81	33
840	86	38
960	93	43
1080	99	47
1200	105	52

EJEMPLO 2

Granulación y compresión de Compuesto A con HPMC, agente solubilizante y rellenos (cargas).

La sustancia activa, el antioxidante y el solubilizante se disolvieron en etanol y redistribuyeron en los excipientes. La mezcla se granuló entonces con HPC disuelta en etanol. A continuación los gránulos se secaron en un horno de secamiento. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

245204

	Peso	Cantidad
Compuesto A	10 mg	4.7%
Aceite de ricino hidrogenado con Polioxil 40	10 mg	4.7%
Galato de propilo	0.06 mg	0.03%
HPC LF	10 mg	4.7%
HPMC 50 cPs	70 mg	33%
HPMC 10 000 cPs	30 mg	14%
Silicato de aluminio sódico	47 mg	22%
Lactosa, anhidra	28 mg	13%
Celulosa microcristalina	3 mg	1.4%
Estearilfumarato de sodio	4 mg	2.0%

Datos de Liberación

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	10	8
30	15	10
45	20	13
60	24	16
120	39	26
180	52	36
240	64	45
360	83	65
480	98	84
600	108	98
720	111	114
840	113	123
960	114	129
1080	117	132
1200	120	132

276205

Los resultados no se han corregido con respecto a la absorción de fondo significativa de la matriz de la tableta; por lo tanto, los valores de liberación de 120% y 132% se observan en 0.1 M HCl y 0.1 M de solución amortiguadora de fosfato de sodio pH 6.8, respectivamente.

EJEMPLO 3

Granulación y compresión de Compuesto A con HPMC, SDS y rellenos (cargas).

La sustancia activa y los materiales excipientes se mezclaron en una tina vibratoria. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

	Peso	Cantidad
Compuesto A	50 mg	23%
HPCLF	13 mg	6%
HPMC 50 cPs	100 mg	47%
Mannitol	50 mg	23%
Laurilsulfato de sodio	20 mg	9%
Dihidrato fosfatado dihidrogenado de sodio	75 mg	35%
Estearilfumarato de sodio	3mg	1%

EJEMPLO 4: Un Ejemplo de una formulación que comprende la sal esilato del Compuesto A, HPMC y SDS

	Peso	Cantidad
Sal esilato de Compuesto A	50 mg	23%
HPC LF	13 mg	6%

	Peso	Cantidad
HPMC 50 cPs	100 mg	47%
Mannitol	50 mg	23%

24/12/06

Laurilsulfato de sodio	20 mg	9%
Dihidrato fosfatado dihidrogenado de sodio	75 mg	35%
Estearilfumarato de sodio	3mg	1%

La formulación se preparó de acuerdo con el método de Ejemplo 3.

EJEMPLO 5: Un Ejemplo de una formulación con sal esilato de Compuesto A y Goma Xantana

	Peso	Cantidad
Sal esilato de Compuesto A	50 mg	19%
Goma Xantana	200 mg	80%
Estearilfumarato de sodio	2.5 mg	1 %

La formulación se preparó de acuerdo con el método de Ejemplo 3.

EJEMPLO 6: Ejemplo de una formulación de la sal esilato de Compuesto A con HPMC y Iota-Carragenina

	Peso	Cantidad
Sal esilato de Compuesto A	500 mg	50%
HPMC 10 000 cPs	245 mg	25%
Iota-Carragenina	245 mg	25%
Estearilfumarato de sodio	10 mg	1%

La formulación se preparó de acuerdo con el método de Ejemplo 3.

EJEMPLO 7: Ejemplo de una formulación de la sal de ácido n-propil sulfónico de Compuesto A con HPMC y Iota-Carragenina

	Peso	Cantidad
--	------	----------

24/02

Sal de ácido <i>n</i> -propil sulfónico de Compuesto A	100 mg	20%
HPMC 10 000 cPs	150 mg	30%
Iota-Carragenina	250 mg	50%
Estearilfumarato de sodio	5mg	1%

La formulación se preparó de acuerdo con el método de Ejemplo 3.

EJEMPLO 8: Ejemplo de una formulación de la sal besilato de Compuesto A con HPMC y Iota-Carragenina

	Peso	Cantidad
Sal besilato de Compuesto A	20 mg	16%
HPMC 10 000 cPs	50 mg	41%
Iota-Carragenina	50 mg	41%
Estearilfumarato de sodio	2mg	2%

La formulación se preparó de acuerdo con el método de Ejemplo 3.

EJEMPLO 9

La compresión directa de la sal esilato de Compuesto A con HPMC 10 000 cPs y HPMC 50 cPs, proporción 50:50.

	Peso	Cantidad
Sal esilato de Compuesto A	50.5 mg	20.0 %
HPMC 10 000 cPs	100.0 mg	39.5 %
HPMC 50 cPs	100.0 mg	39.5 %
Estearilfumarato de sodio	2.5 mg	1.0%

La sustancia activa y los materiales excipientes se mezclaron en una tina vibratoria. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

24/7/2008

Datos de Liberación

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	6	2
30	10	4
45	13	5
60	15	6
120	23	9
180	30	12
240	37	15
360	48	20
480	57	25
600	65	30
720	72	34
840	78	38
960	83	42
1080	87	46
1200	90	49

EJEMPLO 10

La compresión directa de la sal esilato de Compuesto A con HPMC 10 000 cPs y iota-carragenina, proporción 50:50.

La sustancia activa y los materiales excipientes se mezclaron en una tina vibratoria. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

	Peso	Cantidad
Sal esilato de Compuesto A	50.5 mg	20.0 %
HPMC 10 000 cPs	100.0 mg	39.5%
Iota-carragenina (Fluka)	100.0 mg	39.5 %
Estearilfumarato de sodio	2.5 mg	1.0%

259

Datos de Liberación

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	3	2
30	5	3
45	6	5
60	8	6
120	15	13
180	22	21
240	29	30
360	43	51
480	57	72
600	70	91
720	81	104
840	88	106
960	94	106
1080	96	106
1200	96	106

EJEMPLO 11

La sal besilato de Compuesto Ay los materiales excipientes se granularon en un granulador de alta cizalladura. El granulado se secó y se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

	Peso	Cantidad
Sal besilato de Compuesto A	230 mg	57 %
HPMC 10 000 cPs	17 mg	4 %
HPMC 50 cPs	12 mg	3 %
Iota-Carragenina	141 mg	35 %

15/210

Estearilfumarato de sodio	4 mg	1 %
---------------------------	------	-----

Datos de Liberación

Tiempo (horas)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
0.5	6	5
1	10	12
1.5	14	20
2	19	28
3	27	45
4	35	61
5	42	76
6	-	87
7	-	95
8	-	98
9	-	98
10	-	98
12	-	98

EJEMPLO 12

La sal besilato de Compuesto A y los materiales excipientes se granularon en un granulador de alta cizalladura. El granulado se secó y se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

	Peso	Cantidad
Bsal esilato de Compuesto A	230 mg	45%
HPMC 10 000 cPs	14 mg	3%
HPMC 50 cPs	163 mg	32%
Iota-Carragenina	94 mg	19%

25/2/21

Estearilfumarato de sodi	5mg	1 %
--------------------------	-----	-----

Datos de Liberación

Tiempo (horas)	% liberado en una solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en una solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
0.5	5	4
1	10	8
1.5	16	12
2	21	16
3	32	24
4	43	32
5	54	39
6	-	46
7	-	53
8	-	60
9	-	66
10	-	71
12	-	81
14	-	88
16	-	94
18	-	98
20	-	100

EJEMPLO 13

La sal besilato de Compuesto A y los materiales excipientes se comprimieron directamente.

	Peso	Cantidad
Sal besilato de Compuesto A	263 mg	65%
HPMC 50 cPs	137 mg	34%
Estearilfumarato de sodio	4mg	1%

212
252

Datos de Liberación

Tiempo (horas)	% liberado en una solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en una solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	3	4
30	8	7
45	13	10
60	18	14
75	23	17
90	27	20
105	32	23
120	36	26
150	44	32
180	51	37
210	59	42
240	66	47
270	72	52
300	78	56
330	-	60
360	-	64
390	-	67
420	-	70
450	-	74
480	-	76
510	-	79
540	-	82
570	-	84
600	-	86

EJEMPLO 14

Ejemplos de formulaciones que comprenden la sal besilato de Compuesto A. Ejemplos 14-A y 14-B se preparan de acuerdo con el método general de Ejemplo 3 ó 11.

213
2/22**EJEMPLO 14-A**

	Peso	Cantidad
Sal besilato de Compuesto A	50 mg	23%
HPC LF	13 mg	6%
HPMC 50 cPs	100 mg	47%
Mannitol	50 mg	23%
Laurilsulfato de sodio	20 mg	9%
Dihidrato fosfatado dihidrogenado de sodio	75 mg	35%
Estearilfumarato de sodio	3mg	1%

EJEMPLO 14-B

	Peso	Cantidad
Sal besilato de Compuesto A	150 mg	35%
Polietilénóxido WSR N-60K	200 mg	47%
Celulosa microcristalina	60	14%
Polivinil pirrolidona K30	10 mg	2%
Estearilfumarato de sodio	3 mg	1%

EJEMPLO 14-C

	Peso	Cantidad
Sal besilato de Compuesto A	132 mg	30%
Polietilénóxido WSR N-60K	200 mg	69%
Estearilfumarato de sodio	4 mg	1%

La formulación se preparó de acuerdo con el método de Ejemplo 3.

Datos de Liberación para Ejemplo 14-C

Tiempo (horas)	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0
0.5	3
1	5
1.5	7

214
25
2

2	9
2.5	11
3	13
4	18
5	23
6	28
7	33
8	38
9	44
10	49
11	54
12	60
13	65
14	70
15	74
16	78
17	82
18	86
19	89
20	92
21	95
22	97
23	99
24	100

EJEMPLO 15

Ejemplos de formulaciones que comprenden la sal de ácido hemi-naftaleno 1,5-disulfónico de Compuesto B. Todas las formulaciones se preparan de acuerdo con el método general de Ejemplo 11.

EJEMPLO 15-A

	Peso	Cantidad
--	------	----------

215
2/22

Sal de ácido hemi-naftaleno 1,5-disulfónico de Compuesto B	20 mg	16%
HPMC 10 000 cPs	50 mg	41%
Iota-Carragenina	50 mg	41%
Estearilfumarato de sodio	2mg	2%

EJEMPLO 15-B

	Peso	Cantidad
Sal de ácido hemi-naftaleno 1,5-disulfónico de Compuesto B	200 mg	44%
Polietilénóxido WSR N-60K	250 mg	55%
Estearilfumarato de sodio	4mg	1%

EJEMPLO 15-C

	Peso	Cantidad
Sal de ácido hemi-naftaleno 1,5-disulfónico de Compuesto B	200 mg	40%
HPMC 10 000 cPs	120 mg	24%
HPMC 50 cPs	180mg	36%
Estearilfumarato de sodio	5 mg	1 %

Otros Ejemplos pueden prepararse como se indica más arriba, en los cuales HPMC se sustituye por, o se mezcla con, PEO. En el caso de una mezcla, la proporción de PEO: HPMC puede variar de 90:10 a 10:90 %. Una mezcla particular es PEO: HPMC 80%: 20%, ó 75% : 25%.

EJEMPLO 16

Granulación y compresión de Compuesto A con HPMC, SDS y rellenos (cargas). La sustancia activa y los materiales excipientes se mezclaron en una tina vibratoria. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

2/16

	Peso	Cantidad
Compuesto A	48 mg	18%
HPCLF	13 mg	5%
HPMC 50 cPs	60 mg	22%
Mannitol	50 mg	19%
Laurilsulfato de sodio	20 mg	7%
Dihidrato fosfatado dihidrogenado de sodio	75 mg	28%
Estearilfumarato de sodio	3mg	1%

Datos de Liberación

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	9	9
30	19	24
45	28	43
60	37	63
120	70	109
180	92	114
240	103	115
360	106	116
480	106	116
600	102	116
720	100	116
840	100	116
960	99	116
1080	99	116
1200	99	116

2/17

EJEMPLO 17

La compresión directa de Compuesto A con Goma Santana y Iota-Carragenina, proporción 50:50.

La sustancia activa y los materiales excipientes se mezclaron en una tina vibratoria. El granulado se lubricó con estearilfumarato de sodio y se comprimió en tabletas usando una prensa excéntrica.

	Peso	Cantidad
Compuesto A	50.5 mg	20.0 %
<i>i</i> -Carragenina	100.0 mg	39.5%
Goma Xantana	100.0 mg	39.5%
Estearilfumarato de sodio	2.5 mg	1.0%

Datos de Liberación

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 1.1	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	2	1
30	4	1
45	5	2
60	7	3
120	12	6
180	16	11
240	21	17
360	30	31
480	39	45
600	48	60
720	56	75
840	63	88
960	70	97
1080	75	100

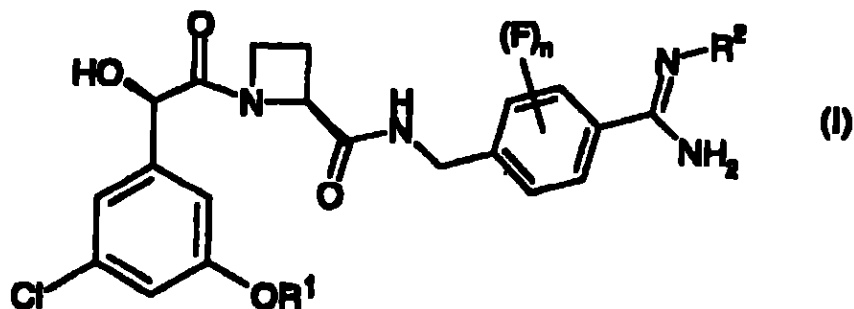
25218

1200	79	100
------	----	-----

Cualquier Ejemplo más arriba, que utilice la base libre o una sal distinta de la sal besilato de Compuesto A, puede repetirse usando la sal besilato de Compuesto A.

Aspectos particulares de la invención se proveen en la siguiente forma:-

1. Una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende como ingrediente activo, un compuesto de fórmula (I):



en donde

R^1 representa C_{1-2} alquilo sustituido por uno o más sustituyentes fluoro;

R^2 representa hidrógeno, hidroxilo, metoxi o etoxi; y

n representa 0, 1 ó 2;

o su sal farmacéuticamente aceptable; y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptables; con la condición que la formulación puede contener únicamente iota-carragenina y un polímero gelinizante neutro cuando el compuesto de fórmula (I) está en la forma de una sal.

2. Una composición como se describe en aspecto 1 en donde el ingrediente activo es una sal de:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) (Compuesto A)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe) (Compuesto B) o,

26029

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$
(Compuesto C)

3. Una composición como se describe en aspecto 1 ó 2 en donde el ingrediente activo es una sal cristalina de:

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$ (Compuesto A)

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe})$
(Compuesto B) o,

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$
(Compuesto C)

4. Una composición como se describe en aspecto 1, 2 ó 3 en donde la composición comprende una matriz gelinizante.
5. Una composición como se describe en aspecto 4 en donde la matriz comprende HPMC.
6. Una composición como se describe en aspecto 4 ó 5 en donde la matriz comprende iota-carragenina.
7. Una composición como se describe en aspecto 4 en donde la matriz comprende SDS.
8. Una composición como se describe en aspecto 2 y 5 ó 2 y 6 en donde la matriz comprende adicionalmente goma xantana.
9. El uso de una formulación como se describe en aspecto 1 como un medicamento.
10. El uso de una formulación como se describe en aspecto 1 en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de un trastorno

26/220

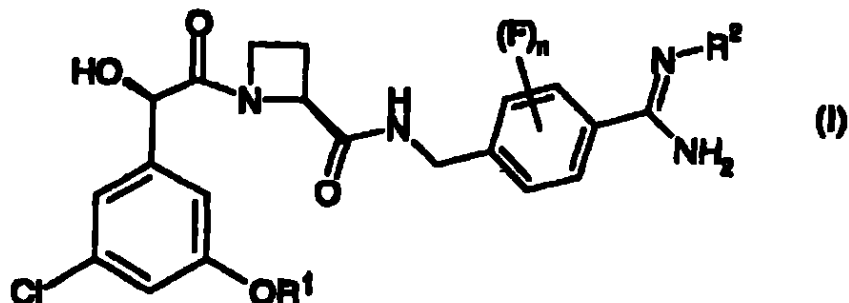
cardiovascular.

11. Un método de tratar un trastorno cardiovascular en un paciente que sufre o en riesgo de dicho trastorno, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación farmacéutica como se describe en aspecto 1.
12. Un proceso para elaborar una formulación de liberación inmediata como se describe en aspecto 1.

Igualmente se provee una composición obtenible por cualquiera de los Métodos y/o Ejemplos descritos aquí.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica de liberación modificada que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de fórmula (I):



en donde

R¹ representa C₁₋₂ alquilo sustituido por uno o más sustituyentes fluoro;

R² representa hidrógeno, hidroxilo, metoxi o etoxi, y

n representa 0, 1 ó 2;

su sal farmacéuticamente aceptable; y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptables; con la condición que la formulación pueda contener únicamente iota-carragenina y un polímero gelificante neutro cuando el compuesto de fórmula (I) está en la forma de una sal.

2. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1 en donde el ingrediente activo es una sal de:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); o

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

3. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1 ó 2 en donde el ingrediente activo es una sal cristalina de:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); o

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

222
26

4. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 ó 3 en donde el ingrediente activo es un ácido etanosulfónico, ácido *n*-propanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 1,5-naftalenodisulfónico, o sal de adición de ácido *n*-butanosulfónico de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe)}$; o $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)}$;

5. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde el ingrediente activo es $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab (OMe)}$, sal de ácido bencenosulfónico, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por picos con valores *d* en 5.9, 4.73, 4.09 y 4.08Å.

6. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde el ingrediente activo es $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)}$, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X en polvo caracterizado por picos con valores *d* en 18.3, 9.1, 5.6, 5.5, 4.13, 4.02, 3.86, 3.69 y 3.63Å.

7. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde la composición comprende una matriz gelificante.

8. Una composición como se reivindica en la reivindicación 7 en donde la matriz comprende HPMC.

9. Una composición como se reivindica en la reivindicación 7 ó 8 en donde la matriz comprende iota-carragenina.

10. Una composición como se reivindica en la reivindicación 7 en donde

223
26/4

la matriz comprende SDS.

11. El uso de una formulación como se reivindica en la reivindicación 1 como un medicamento.

12. El uso de una formulación como se reivindica en la reivindicación 1 en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de un trastorno cardiovascular.

13. Un método de tratar un trastorno cardiovascular en un paciente que sufre o está en riesgo de dicho trastorno, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación farmacéutica, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

PATENT COOPERATION TREATY

1613
224
J

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To: Global Intellectual Property AstraZeneca AB 151 85 Södertälje		NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY (Chapter II of the Patent Cooperation Treaty) (PCT Rule 71.1)	
	PROPERTY CODE	DATE	NTD
ANKOM 28 SEP 2004		GIPS	
DATA ENTERED		Date of mailing (day/month/year)	
Applicant's or agent's file ref. 100707-1 WO		27-09-2004	
FINAL CHECK		IMPORTANT NOTIFICATION	
International application No. PCT/SE2003/000858		International filing date (day/month/year) 27-05-2003	
Applicant AstraZeneca AB et al		Priority date (day/month/year) 31-05-2002	
		28 SEP 2004	

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

 The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

 Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

 For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the *PCT Applicant's Guide*.

 The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed invention is patentable or not" (see Also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the IPEA/ Patent- och registreringsverket Box 8066 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. 08-697 72 88	Telex 17878 PATOREG-S	Authorized officer Christina Wall Telephone No. 08-782 25 00
--	-----------------------------	--

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

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

(PCT Article 36 and Rule 70)

ANKOM 8 SEP 2004 GIPS

DATA

ENTERED

FINAL

CHECK

Applicant's or agent's file reference 100707-1 WO	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/IPEA/416	
International application No. PCT/SE 2003/000858	International filing date (day/month/year) 27.05.2003	Priority date (day/month/year) 31.05.2002
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 9/00, A61K 9/22, A61K 9/52, A61K 47/36, A61K 31/397, A61P 9/00		
Applicant AstraZeneca AB et al		

- This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.
- This REPORT consists of a total of 8 sheets, including this cover sheet.
- This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:
 - ☐ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of _____ sheets, as follows:
 - ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).
 - ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.
 - ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) _____, containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).

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

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

Date of submission of the demand 11.12.2003	Date of completion of this report 24.09.2004
Name and mailing address of the IPEA/SE Patent- och registreringsverket Box 5055 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 667 72 88	Authorized officer Eva Johansson/EÖ Telephone No. +46 8 782 25 00

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) (January 2004)

Box No. 1 Basis of the report

1. With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ This report is based on a translation from the original language into the following language _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of:

- ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
☐ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)

2. With regard to the elements of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*:

☒ the international application as originally filed/furnished

☐ the description:

pages _____ as originally filed/furnished

pages* _____ received by this Authority on _____

pages* _____ received by this Authority on _____

☐ the claims:

pages _____ as originally filed/furnished

pages* _____ as amended (together with any statement) under Article 19

pages* _____ received by this Authority on _____

pages* _____ received by this Authority on _____

☐ the drawings:

pages _____ as originally filed/furnished

pages* _____ received by this Authority on _____

pages* _____ received by this Authority on _____

☐ a sequence listing and/or any related table(s) – see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
☐ the claims, Nos. _____
☐ the drawings, sheets/figs _____
☐ the sequence listing (specify): _____
☐ any table(s) related to the sequence listing (specify): _____

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

- ☐ the description, pages _____
☐ the claims, Nos. _____
☐ the drawings, sheets/figs _____
☐ the sequence listing (specify): _____
☐ any table(s) related to the sequence listing (specify): _____

* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/SE 2003/000858

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application

☒ claims No. 13

because:

☒ the said international application, or the said claims No. 13
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

See PCT Rule 67.1.(iv): Methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.

☐ the description, claims or drawings (indicate particular elements below) or said claims No. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (specify):

☐ the claims, or said claims No. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for said claims No. _____

☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:

the written form

☐

has not been furnished

☐

does not comply with the standard

the computer readable form

☐

has not been furnished

☐

does not comply with the standard

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in the Annex C-64s of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details.

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/SE 2003/000858

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting each statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	<u>1-12</u>	YES
	Claims	_____	NO
Inventive step (IS)	Claims	_____	YES
	Claims	<u>1-12</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	<u>1-12</u>	YES
	Claims	_____	NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

The following documents were cited in the International Search Report:

D1: WO 0219990 A1

D2: WO 9816252 A1

D3: WO 9739770 A1

D4: Bonferoni M C et al; "On the Employment of λ -carrageenan in a Matrix System. II. λ -Carrageenan and Hydroxypropylmethylcellulose Mixtures"; Journal of Controlled Release; 30 (1994) 175-182

D5: Park H-Y et al; "Effect of pH on Drug Release From Polysaccharide Tablets"; Drug Delivery; 5 (1998) 13-18

D6: Talukdar M.M. et al; "In vivo evaluation of xanthan gum as a potential excipient for oral controlled-release matrix tablet formulation"; International Journal of Pharmaceutics; 169 (1998) 105-113

The problem the present application aims to solve is to provide a modified release pharmaceutical formulation comprising a compound of formula (I) as defined in the application.

The scope of the present invention is very broad and comprises, with some exceptions, every imaginable modified release formulation comprising the compounds of formula (I). Claims 1-6 do not explain how such modified release formulations may be achieved.

.... / ...

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: BOX V

Further, according to claim 7 the composition shall comprise a "gelling matrix". It is not clear what this expression includes.

However, in order to be inventive, the claims should clearly define the formulation by its actual composition and the claims should be limited to formulations for which support in the description is to be found.

Documents D1-D3 disclose formulations which comprise or may comprise active agents which are structurally similar to the active ingredient of the present invention. The formulations of D1 are matrices of a modified water soluble polysaccharide, especially hydroxyethyl cellulose. D2 relates to extended release formulations comprising a co-polymer and D3 describes extended release formulations with cyclodextrin. It is considered to be obvious to a person skilled in the art to substitute the active ingredients of D1-D3 for a structurally similar compound such as compound of formula (I) to provide a modified release formulation according to the present invention. The invention according to claims 1-6 and 11-12 is therefore not considered to be inventive.

D1 describes the use of hydroxyethyl cellulose, which in the present application is mentioned as a gelling polymer, in a matrix formulation for modified release of a compound that is structurally similar to the compounds of the invention. Modified release compositions comprising a matrix of a polymer such as HPMC, iota-carrageenan and xanthan gum are well known in the art for example from D4-D6. Sodium dodecyl sulphate is a common ingredient in pharmaceutical formulations. It is considered to be within the skills of a person skilled in the art to use known formulations and known excipients for preparing a formulation of a novel pharmaceutically active agent. As the claims are very general and the application does not show that there is any unexpected technical effect of the formulations according to the invention the invention according to claims 8-10 is considered to lack inventive step.

.../...

230
272

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of Box V

Compounds structurally similar to the active compounds of the invention are known from for example D2 and D3 for use in the treatment of disorders characterised by hypercoagulation. It is therefore considered to be obvious to a person skilled in the art to use the compounds of formula (I) in the treatment of cardiovascular disorders. Claims 11-12 are therefore considered to lack inventive step.

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/SE 2003/000858

231

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No. Patent No.	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
WO 0244145 A1	06.06.2002	30.11.2001	01.12.2000

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)

232
C
2

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The scope of the present invention is very broad and comprises, with some exceptions, every imaginable modified release formulation comprising the compounds of formula (I). Claims 1-6 do not explain how such modified release formulations may be achieved. The formulation is defined by a desirable characteristic, namely that it should give modified release of the active ingredient, and not by its actual composition. These claims actually formulate the problem, which the present invention aims to solve, rather than a solution to this problem. Claims 1-6 relate to practically any modified release formulation of a compound of formula (I) while the description provides support only for formulations comprising a gelling matrix.

According to claim 7, the composition shall comprise a "gelling matrix". It is not clear what this expression includes. Claims 1-7 and 11-12 are therefore not considered to fulfil the demands of clarity and support as stated in Article 6 PCT. This Statement relates to modified formulations comprising a compound of formula (I) in general but has been focused on formulations comprising a gelling matrix. However, in order to be inventive, the claims should clearly define the formulation by its actual composition and the claims should be limited to formulations for which support in the description is to be found.

233
27/2

**TRATADO SOBRE COOPERACIÓN INTERNACIONAL
EN MATERIA DE PATENTES**

Remitente:

OFICINA ENCARGADA DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

A:

**Global Intellectual Property
AstraZeneca AB
151 85 Södertälje**

PCT

**COMUNICACIÓN SOBRE EL ENVÍO DEL
INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL**

(Capítulo II del tratado de Cooperación en Materia de
Patentes)
(Regla 71.1 PCT)

Fecha de envío
(Día/Mes/Año)

27-08-2004

No. de Expediente del Solicitante o Apoderado

100707-1 WO

COMUNICACIÓN IMPORTANTE

No. de Solicitud Internacional

PCT/SE2003/000858

Fecha Internacional de Presentación
(día/mes/año)

27-05-2003

Fecha de Prioridad
(día/mes/año)

31.05.2002

Solicitante

AstraZeneca AB et al

1. Se comunica al solicitante que la oficina encargada del examen preliminar internacional le envía con el presente el informe de examen preliminar internacional, elaborado para la solicitud internacional, en caso dado con los anexos correspondientes.
2. Una copia del informe, en caso dado con los anexos correspondientes se hace llegar a la Oficina Internacional para su envío posterior a todas las oficinas seleccionadas.
3. A solicitud de una oficina seleccionada, la Oficina Internacional preparará una traducción del informe (pero no de los anexos) al inglés y la remitirá a esta oficina.
4. **RECORDATORIO**

Para ingresar en la fase nacional el solicitante, dentro de los 30 meses a partir de la fecha de prioridad (o en algunas oficinas incluso después), tiene que realizar ante cada oficina seleccionada ciertos actos (entrega de traducciones y desembolso de honorarios nacionales) (Artículo 39 (1)) (véase también la información remitida por la Oficina Internacional en el Formulario PCT/IB/301).

Si se tiene que enviar a una oficina seleccionada una traducción de la solicitud internacional, entonces esta traducción tiene que incluir traducciones de todos los anexos al informe de examen preliminar internacional. Es obligación del solicitante elaborar dichas traducciones y hacerlas llegar directamente a las oficinas seleccionadas respectivas.

Mayores detalles en cuanto a los plazos normativos y los requisitos de las oficinas seleccionadas se desprenden del Volumen II de la guía PCT para solicitantes.

Se llama la atención del solicitante al Artículo 33(5), que establece que los criterios de novedad, actividad inventiva y posibilidad de aplicación industrial descritos en Artículo 33(2) a (4) sirven meramente los propósitos del examen preliminar internacional y que "todo Estado Contratante puede aplicar criterios adicionales o diferentes para efectos de decidir si la invención reivindicada es patentable o no" (véase también Artículo 27 (5)). Los criterios adicionales pueden incluir, por ejemplo, exención de patentabilidad y los requerimientos, si se permite la divulgación, y de claridad y soporte de las reivindicaciones.

Nombre y dirección postal de la Oficina Encargada del
Examen Preliminar Internacional de Suecia IPEA/SE

Patent- och registreringsverket
Box 5055
S-102 42 ESTOCOLMO

Telex
17978
PATOREG-S

Fax No. 08-667 72 88

Empleado Autorizado

Christina Wall

Teléfono No. 08 782 25 00

Formulario PCT/IPEA418 (Enero 2004)

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL (Capítulo II del tratado de Cooperación en Materia de Patentes)

(Artículo 38 y Regla 70 PCT)

No. de Expediente del Solicitante o Apoderado 100707-1 WO	PROCEDIMIENTO POSTERIOR Véase formulario PCT/IPEA/416	
No. Solicitud Internacional PCT/SE2003/000858	Fecha Internacional de Presentación (día/mes/año) 27.05.2003	Fecha de Prioridad (día/mes/año) 31.05.2002
Clasificación Internacional de Patente (IPC) o Clasificación Nacional e IPC A61K 9/00, A61K 9/22, A61K 9/52, A61K 47/36, A61K 31/397, A61P 9/00		
Solicitante AstraZeneca AB et al.		

1. El presente informe es el informe de examen preliminar internacional, establecido por esta Oficina Encargada del Examen Preliminar Internacional bajo Artículo 35 y transmitido a solicitante de acuerdo con el Artículo 38. 2. El presente INFORME comprende un total de <u>8</u> hojas, inclusive esta portada 3. Este importe se acompaña igualmente por ANEXOS, que comprenden: a. ☐ (enviado al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de _____ hojas, como sigue: ☐ hojas de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos que se han corregido y constituyen la base de el presente informe y/o hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Oficina (véase Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas). ☐ hojas que reemplazan hojas anteriores, pero que esta Oficina considera que contienen una corrección que va más allá de la divulgación en la solicitud internacional tal como se presentó, como se indica en el ítem 4 de Casilla No. I y la Casilla Adicional. b. ☐ (enviado a la Oficina Internacional únicamente) un total de (indicar tipo y número de medios electrónicos) _____, que contiene un listado de secuencias y/o tablas relacionadas con este asunto, en formato de lectura por computador únicamente, como se indica en la Casilla Adicional Relativa al Listado de Secuencias (véase Sección 602 de las Instrucciones Administrativas).	
4. El presente informe contiene datos con respecto a los siguientes puntos: ☒ Casilla No. I Base del Informe ☐ Casilla No. II Prioridad ☒ Casilla No. III Sin elaboración de un dictamen sobre novedad, actividad inventiva y posibilidad de aplicación industrial ☐ Casilla No. IV Uniformidad deficiente de la invención ☒ Casilla No. V Declaración justificada según Artículo 35(2) con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial; documentos y explicaciones que sustentan esta declaración ☒ Casilla No. VI Ciertos documentos enumerados ☐ Casilla No. VII Ciertas deficiencias del registro internacional ☒ Casilla No. VIII Ciertas observaciones relacionadas con la solicitud internacional	

Fecha de presentación de la petición 11.12.2003	Fecha de la preparación de el presente informe 24.09.2004
Nombre y dirección postal de la Oficina Encargada del Examen Preliminar Internacional de Suecia IPEA/SE Patent- och registreringsverket Box 5065 S-102 42 ESTOCOLMO Fax No. +46 8 687 72 88	Empleado Autorizado Eva Johansson/EÖ Teléfono No. +46 8 782 25 00

Formulario PCT/IPEA/409 (portada) (Enero 2004)

234

Cuadro No. I Base del Informe

1. En lo concerniente al idioma, el presente informe se basa en la solicitud internacional en el idioma en que se presentó, a menos que se indique lo contrario en este ítem.
- ☐ El presente informe se basa en una traducción del idioma original al siguiente idioma _____, el cual es el idioma de una traducción suministrada para efectos de:
- ☐ Búsqueda internacional (según la regla 12.3 y 23.1(b)).
 - ☐ Publicación de la solicitud internacional (según la regla 12.4).
 - ☐ Examen preliminar internacional (según la regla 55.2 y/o 55.3).
2. Con respecto a los elementos de la solicitud internacional, el presente informe se basa en (hojas intercambiables que se han suministrado por la Oficina receptora en respuesta a una invitación bajo Artículo 14 se designan en el presente informe como "presentadas originalmente" y no se anexan a el presente informe):
- ☒ la solicitud internacional tal como se radicó originalmente
- ☐ la descripción:
- páginas _____, como se radicaron originalmente
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- ☐ Las reivindicaciones:
- páginas _____, como se radicaron originalmente
- páginas * _____, como se modificaron (junto con cualquier declaración) bajo artículo 18
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- ☐ Los dibujos:
- páginas _____, como se radicaron originalmente
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- ☐ Un listado de secuencias y/o cualquiera tabla(s) relacionada(s) – véase Casilla Adicional Relativa al Listado de Secuencias.
3. ☐ Las modificaciones han acarreado la anulación de:
- ☐ de la descripción, páginas _____.
 - ☐ de las reivindicaciones, Nos. _____.
 - ☐ de los dibujos, hojas/figs _____.
 - ☐ el listado de secuencias (especificar): _____.
 - ☐ cualquier tabla(s) relacionada(s) con el listado de secuencias (especificar) _____.
4. ☐ El presente informe se preparó como si (algunas de) las modificaciones anexas al presente informe y listadas a continuación no se hubieran hecho, puesto que se considera que van más allá de la divulgación tal como se radicó, como se indica a continuación en la Casilla Adicional (regla 70.2 (c)).
- ☐ de la descripción, páginas _____.
 - ☐ de las reivindicaciones, Nos. _____.
 - ☐ de los dibujos, hojas/figs _____.
 - ☐ el listado de secuencias (especificar): _____.
 - ☐ cualquier tabla(s) relacionada(s) con el listado de secuencias (especificar) _____.

* Si se aplica el ítem 4, algunas de estas hojas pueden marcarse "reemplazadas."

**INF RME DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional No.
PCT/SE2003/000858

Cuadro No. III. Sin elaboración de un dictamen sobre novedad, actividad inventiva y posibilidad de aplicación Industrial

Los interrogantes en cuanto a si la invención reivindicada parece ser novedosa, implicar una actividad inventiva (no ser obvia), o tener posibilidad de aplicación Industrial no se han examinado con respecto a:

☐ la solicitud internacional en su totalidad,

☒ reivindicaciones, Nos. 13

porque:

☒ la solicitud internacional citada, o las reivindicaciones citadas Nos. 13
se refieren al asunto en cuestión que no requieren un examen preliminar internacional
(especificar):

Véase PCT Regla 67.1. (iv).: Métodos para tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia, así como métodos diagnósticos.

☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indicar elementos particulares más adelante*) o las reivindicaciones citadas Nos. _____ todas en parte son tan ambiguas que no pudo formarse un concepto significativo (*especificar*):

☐ las reivindicaciones, o las reivindicaciones citadas Nos. _____ están tan inadecuadamente fundamentadas por la descripción que no pudo formarse un concepto significativo.

☐ no se ha establecido un reporte de búsqueda internacional por las citadas reivindicaciones Nos. _____

☐ El listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos no cumple el estándar contemplado en Anexo C de las Instrucciones Administrativas en que:

el formulario escrito

☐ no se ha suministrado

☐ no cumple con el estándar

el formulario de lectura en computador

☐ no se ha suministrado

☐ no cumple con el estándar

☐ Las tablas relacionadas con el listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos, si en formato de lectura en computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos contemplados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.

☐ Véase Casilla Adicional para más detalles.

237
272

INF RME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/SE2003/000858

Cuadro No. V Declaración motivada bajo Artículo 34(2) en cuanto a la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. DECLARACIÓN

Novedad (N)	Reivindicaciones 1-12	SÍ
	Reivindicaciones	NO
Actividad Inventiva (IS)	Reivindicaciones	SÍ
	Reivindicaciones 1-12	NO
Posibilidad de Aplicación Industrial (IA)	Reivindicaciones 1-12	SÍ
	Reivindicaciones	NO

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)

Los siguientes documentos se citaron en el Informe de Búsqueda Internacional:

- D1: WO 0219990 A1
D2: WO 9816252 A1
D3: WO 9739770 A1
D4: Bonferoni M C et al; "Sobre el Empleo de una A-Carragenina en un Sistema de Matriz. II. Mezclas de A-Carragenina e Hidroxipropilmetilcelulosa"; Diario de la Liberación Continuada; 30 (1994) 175-182
D5: Park H-Y et al; "Efecto del pH sobre la Liberación de Medicamento de Tabletas de Polisacárido"; Administración de Medicamentos; 5 (1998) 13-18
D6: Talukdar M.M. et al; "Evaluación in vivo de goma xantana como excipiente potencial para una formulación oral de tableta de matriz de liberación controlada"; Diario Internacional de Productos Farmacéuticos; 169 (1998) 105-113

El problema que la presente solicitud apunta a resolver es proveer una formulación farmacéutica de liberación modificada que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define en la solicitud.

El ámbito de la presente invención es muy amplio y comprende, con algunas excepciones, toda formulación imaginable de liberación modificada, que comprende los compuestos de fórmula (I). Las reivindicaciones 1-6 no explican cómo pueden obtenerse tales formulaciones de liberación modificada.

.../...

238

Cuadro Suplementario

En caso de que el espacio en cualquiera de los cuadros precedentes sea insuficiente.
Continuación de: CUADRO V

Además, de acuerdo con la reivindicación 7, la composición comprenderá una "matriz gelinizante". No es claro qué incluye esta expresión.

No obstante, con el fin de ser inventivas, las reivindicaciones deben definir claramente la formulación mediante su composición actual, y las reivindicaciones deben limitarse a formulaciones para las cuales tiene que hallarse fundamento en la descripción.

Documentos D1-D3 divulgan formulaciones que comprenden o pueden comprender agentes activos que son estructuralmente similares al ingrediente activo de la presente invención. Las formulaciones de D1 son matrices de un polisacárido hidrosoluble modificado, especialmente hidroxietilcelulosa. D2 se refiere a formulaciones de liberación extendida, que comprenden un co-polímero, y D3 describe formulaciones de liberación extendida con ciclodextrina. Se considera que es obvio para una persona experta en el arte sustituir los ingredientes activos de D1-D3 por un compuesto estructuralmente similar, tal como un compuesto de fórmula (I), para proveer una formulación de liberación modificada de acuerdo con la presente invención. Por lo tanto, no se considera que la invención de acuerdo con las reivindicaciones 1-6 y 11-12 sea inventiva.

D1 describe el uso de hidroxietilcelulosa, que en la presente solicitud se menciona como un polímero gelinizante, en una formulación de matriz para liberación modificada de un compuesto que es estructuralmente similar a los compuestos de la invención. Composiciones de liberación modificada, que comprenden una matriz de un polímero tal como HPMC, iota-carragenina y goma Santana, son bien conocidos en el arte, por ejemplo, de D4-D6. El dodecilsulfato de sodio es un ingrediente común en formulaciones farmacéuticas. Se considera que está dentro de las habilidades de una persona experta en el arte usar formulaciones conocidas y excipientes conocidos para preparar una formulación de un agente novedoso farmacéuticamente activo. Como las reivindicaciones son muy generales y la solicitud no muestra que haya un efecto técnico inesperado de las formulaciones de acuerdo con la invención, se considera que la invención de acuerdo con las reivindicaciones 8-10 carece de actividad inventiva.

.../...

239
288

INF RME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.

PCT/SE2003/000858

Cuadro Suplementario

En caso de que el espacio en cualquiera de los cuadros precedentes sea insuficiente.
Continuación de: CUADRO V

Compuestos estructuralmente similares a los compuestos activos de la invención son conocidos, por ejemplo, de D2 y D3 para uso en el tratamiento de trastornos caracterizados por hipercoagulación. Por lo tanto, se considera que es obvio para una persona experta en el arte utilizar los compuestos de fórmula (I) en el tratamiento de trastornos cardiovasculares. Por consiguiente, se considera que las reivindicaciones 11-12 carecen de actividad inventiva.

.../...

281

INF RME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.

PCT/SE2003/000858

VI. Ciertos documentos citados

1. Ciertos documentos publicados (Regla 70.10)

Solicitud No. Patente No.	Fecha de Publicación (día/mes/año)	Fecha de Presentación (día/mes/año)	Fecha de Prioridad (reivindicación válida) (día/mes/año)
WO 0244145 A1	06.08.2002	30.11.2001	01.12.2000

2. Divulgaciones no escritas (Regla 70.9)

Clase de divulgación no escrita	Fecha de divulgación no escrita (día/mes/año)	Fecha de divulgación escrita referente a una divulgación no escrita (día/mes/año)

Cuadro No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Se hacen las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, descripción, y dibujos o la cuestión de si las reivindicaciones están completamente sustentadas por la descripción:

El ámbito de la presente invención es muy amplio y comprende, con algunas excepciones, toda formulación imaginable de liberación modificada, que comprende los compuestos de fórmula (I). Las reivindicaciones 1-6 no explican cómo pueden obtenerse tales formulaciones de liberación modificada. La formulación se define por una característica deseable, a saber, que debe proporcionar liberación modificada del ingrediente activo, y no sólo por su composición actual. Estas reivindicaciones formulan actualmente el problema, que la presente invención apunta a resolver, más que una solución a este problema. Las reivindicaciones 1-6 se refieren a prácticamente cualquier formulación de liberación modificada de un compuesto de fórmula (I), mientras que la descripción brinda sustento únicamente para formulaciones que comprenden una matriz gelinizante.

De acuerdo con la reivindicación 7, la composición deberá comprender una "matriz gelinizante". No es claro qué incluye esta expresión. Por lo tanto, se considera que las reivindicaciones 1-7 y 11-12 no satisfacen las demandas de claridad y fundamento, como se establece en el Artículo 6 PCT. Esta declaración se refiere a formulaciones modificadas que comprenden un compuesto de fórmula (I) en general, pero se ha centrado en formulaciones que comprenden una matriz gelinizante. No obstante, con el fin de ser inventivas, las reivindicaciones deben definir claramente la formulación por su composición actual, y las reivindicaciones deben limitarse a formulaciones para las cuales hay que hallar sustento en la descripción.

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT**NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES**

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY
AstraZeneca AB
S-151 85 Södertälje
SUÈDE

CODE	DATE	NTD
GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY		—
ANKOM	22 DEC 2003	GPS
DATA ENTERED	8613 21	
FINAL CHECK		

IMPORTANT NOTICE

Date of mailing (day/month/year)

11 December 2003 (11.12.03)

Applicant's or agent's file reference

100707-1 WO

International application No.

PCT/SE03/00858

International filing date (day/month/year)

27 May 2003 (27.05.03)

Priority date (day/month/year)

31 May 2002 (31.05.02)

Applicant

ASTRAZENECA AB et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

AU, AZ, BY, CH, CN, CO, DE, DZ, EP, HU, JP, KG, KP, KR, MD, MK, MZ, RU, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AG, AL, AM, AP, AT, BA, BB, BG, BR, BZ, CA, CF, CU, CZ, DK, DM, EA, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, ID, IL, IN, IS, KE, KZ, LG, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 11 December 2003 (11.12.03) under No. WO 03/101424.

4. **TIME LIMITS** for filing a demand for international preliminary examination and for entry into the national phase

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, these limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a demand for international preliminary examination, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Judith Zahra

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE 03/00858

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: A61K 9/00, A61K 9/22, A61K 9/52, A61K 47/36, A61K 31/397, A61P 9/00
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: A61K, A61P

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

SE,DK,FI,NO classes as above

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

CHEM ABS DATA, EPO INTERNAL, WPI DATA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 0219990 A1 (ASTRAZENECA UK LTD), 14 March 2002 (14.03.02)	1-13
X	WO 9816252 A1 (ASTRA AB), 23 April 1998 (23.04.98)	1-13
X	WO 9739770 A1 (STJERNFELT, ULLA ET AL), 30 October 1997 (30.10.97)	1-13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

"B" earlier application or patent but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

25 August 2003

28-08-2003

Name and mailing address of the ISA/
Swedish Patent Office
Box 5058, S-102 42 STOCKHOLM

Authorized officer

Vivica Norén/EK

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 03/00858

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Journal of Controlled Release, Vol 30, 1994, M C Bonferoni et al: "On the employment of lambda-carrageenan in a matrix system. II. Lambda-Carrageenan and hydroxypropylmethylcellulose mixtures", pages 175-182 ---	1-9,11
X	Drug Delivery, Vol 5, 1998, Han-Yong Park et al: "Effect of pH on Drug Release From Polysaccharide Tablets", pages 13-18 ---	1-7,9,11
X	International Journal of Pharmaceutics, Vol 169, 1998, M M Talukdar et al: "In vivo evaluation of xanthan gum as a potential excipient for oral controlled-release matrix tablet formulation", pages 105-113 ---	1-7,11
P,A	WO 0244145 A1 (ASTRAZENECA AB), 6 June 2002 (06.06.02) -----	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE03/00858

245
200

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see next sheet
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE03/00858

246
28

Claim 13 relates to a method of treatment of the human or animal body by surgery or by therapy/a diagnostic method practised on the human or animal body/Rule 39.1(iv). Nevertheless, a search has been executed for this claim. The search has been based on the alleged effects of the compound/composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

26/07/03

International application No.

PCT/SE 03/00858

247

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO	0219990	A1	14/03/02	AU	8418901 A	22/03/02
				EP	1322293 A	02/07/03
				SE	0003125 D	00/00/00
WO	9816252	A1	23/04/98	AU	4641097 A	11/05/98
				SE	9603724 D	00/00/00
WO	9739770	A1	30/10/97	AU	2719597 A	12/11/97
				AU	7716496 A	19/06/97
				EP	0864173 A	16/09/98
				JP	2000501239 T	02/02/00
				SE	9601556 D	00/00/00
				US	6242274 B	05/06/01
				ZA	9703062 A	24/10/97
WO	0244145	A1	06/06/02	AU	1861802 A	11/06/02
				SE	0004458 D	00/00/00
				AU	5896101 A	20/11/01
				CA	2407846 A	15/11/01
				EP	1278911 A	29/01/03
				SE	0100965 D	00/00/00
				AU	6287401 A	11/12/01
				BR	0111328 A	10/06/03
				CA	2408596 A	06/12/01
				EP	1289992 A	12/03/03
				NO	20025756 A	24/01/03
				SE	0101239 D	00/00/00
				SE	0102921 D	00/00/00
				WO	03018551 A	06/03/03

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 28.05.2003 01:00:47 PM

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form - PCT/RO/101 PCT Request	
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.04.2003)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	Swedish Patent Office (RO/SE)
0-7	Applicant's or agent's file reference	100707-1 WO
I	Title of invention	MODIFIED RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION
II	Applicant	
II-1	This person is:	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	ASTRAZENECA AB
II-5	Address:	S-151 85 Södertälje Sweden
II-6	State of nationality	SE
II-7	State of residence	SE
II-8	Telephone No.	+46 8 553 260 00
II-9	Facsimile No.	+46 8 553 288 20
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is:	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	MAGNUSSON, Anders
III-1-5	Address:	AstraZeneca R&D Mölndal S-431 83 Mölndal Sweden
III-1-6	State of nationality	SE
III-1-7	State of residence	SE

PCT REQUEST

2/5

100707-1 V01

Original (for SUBMISSION) - printed on 28.05.2009 01:00:47 PM

II-2	Applicant and/or inventor	
II-2-1	This person is:	applicant and inventor
II-2-2	Applicant for	US only
II-2-4	Name (LAST, First)	THUNE, Mikael
II-2-5	Address:	AstraZeneca R&D Mölndal S-431 83 Mölndal Sweden
III-2-6	State of nationality	SE
III-2-7	State of residence	SE
IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name	GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY
IV-1-2	Address:	AstraZeneca AB S-151 85 Södertälje Sweden
IV-1-3	Telephone No.	+46 8 553 260 00
IV-1-4	Facsimile No.	+46 8 553 288 20
V	Designation of States	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AP: GN GM KE LS MW NE SD SL SX TZ UG ZM ZW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AZ BY KG KS MD RU TJ TM and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT EP: AT BE BG CH LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT
V-2	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AE AG AL AM AT AU AZ BA BE BG BR BY BZ CA CH LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DZ EC EE ES FI GB GD GE GH GI GR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KX LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX ME NI NO NZ OM PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL TJ TM TN TR TT TZ UA UG US UZ VC VN YU ZA ZM ZW

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 28.05.2003 01:00:47 PM

100707-1 W

V-6	Precautionary Designation Statement In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.8(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-6 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.		
V-6	Exclusion(s) from precautionary designations	NONE	
VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	31 May 2002 (31.05.2002)	
VI-1-2	Number	0201659-0	
VI-1-3	Country	SE	
VII-1	International Searching Authority Chosen	Swedish Patent Office (ISA/SE)	
VII-2	Request to use results of earlier search; reference to that search		
VII-2-1	Date	31 May 2002 (31.05.2002)	
VII-2-2	Number	SE 02/00490	
VII-2-3	Country (or regional Office)	SE	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	1	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	

242251

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(i)). In a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name:	in relation to this international application ASTRAZENECA AB is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1		ASTRAZENECA AB is entitled as employer
(ii)		of the inventor, MAGNUSSON, Anders
VIII-2-1		ASTRAZENECA AB is entitled as employer
(ii)		of the inventor, THUNE, Mikael
VIII-2-1	This declaration is made for the purposes of:	all designations except the designation
(iii)		of the United States of America

PCT REQUEST

5/5

Original (for SUBMISSION) - printed on 25.05.2003 01:00:47 PM

100707-1 WO

IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	5	-
IX-2	Description	106	-
IX-3	Claims	3	-
IX-4	Abstract	1	HEABST00.TXT
IX-5	Drawings	0	-
IX-7	TOTAL	115	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-9	Original separate power of attorney	✓	-
IX-11	Copy of general power of attorney	reference no. GF 1961/2003	-
IX-13	Priority document(s)	Item(s) VI-1	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-18	Other (specified):	ITS Report SE 02/00490	-
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative	<i>Christer Wahlström</i>	
X-1-1	Name	GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY	
X-1-2	Name of signatory	Christer Wahlström	

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/SE
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ SE

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty and hereby elects all eligible States (except where otherwise indicated).

For International Preliminary Examining Authority use only		
Identification of IPEA		Date of receipt of DEMAND
Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION		Applicant's or agent's file reference 100707-1 WO
International application No. PCT/SE03/00858	International filing date (day/month/year) 27 May 2003 (27.05.2003)	(Earliest) Priority date (day/month/year) 31 May 2002 (31.05.2002)
Title of invention MODIFIED RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION		
Box No. II APPLICANT(S)		
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) AstraZeneca AB SE-151 85 Södertälje Sweden		Telephone No. +46 8 553 260 00
		Facsimile No. +46 8 553 288 20
		Teleprinter No.
		Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: SE		State (that is, country) of residence: SE
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) MAGNUSSON, Anders AstraZeneca R&D Mölndal SE-431 83 Mölndal Sweden		
State (that is, country) of nationality: SE		State (that is, country) of residence: SE
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.) THUNE, Mikael AstraZeneca R&D Mölndal SE-431 83 Mölndal Sweden		
State (that is, country) of nationality: SE		State (that is, country) of residence: SE
☐ Further applicants are indicated on a continuation sheet.		

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is ☒ agent ☐ common representativeand ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation.
The address must include postal code and name of country.)Global Intellectual Property
AstraZeneca AB
SE-151 85 Södertälje
Sweden

Telephone No.

+46 8 553 260 00

Facsimile No.

+46 8 553 288 20

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION

Statement concerning amendments:*

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:

☒ the international application as originally filedthe description ☐ as originally filed☐ as amended under Article 34the claims ☐ as originally filed☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)☐ as amended under Article 34the drawings ☐ as originally filed☐ as amended under Article 342. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.3. ☐ The applicant wishes the start of the international preliminary examination to be postponed until the expiration of 20 months from the priority date unless the International Preliminary Examining Authority receives a copy of any amendments made under Article 19 or a notice from the applicant that he does not wish to make such amendments (Rule 69.1(d)). (This check-box may be marked only where the time limit under Article 19 has not yet expired.)

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English

☒ which is the language in which the international application was filed.☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.☐ which is the language of publication of the international application.☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.

Box No. V ELECTION OF STATES

The applicant hereby elects all eligible States (that is, all States which have been designated and which are bound by Chapter II of the PCT)

excluding the following States which the applicant wishes not to elect:

255
246

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

- | | | |
|--|---|--------|
| 1. translation of international application | : | sheets |
| 2. amendments under Article 34 | : | sheets |
| 3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19 | : | sheets |
| 4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19 | : | sheets |
| 5. letter | : | sheets |
| 6. other (specify) | : | sheets |

For International Preliminary
Examining Authority use only

received	not received
----------	--------------

☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

- | | |
|--|---|
| 1. ☒ fee calculation sheet | 5. ☐ statement explaining lack of signature |
| 2. ☐ original separate power of attorney | 6. ☐ sequence listings in computer readable form |
| 3. ☐ original general power of attorney | 7. ☐ tables in computer readable form related to sequence listings |
| 4. ☒ copy of general power of attorney; reference number, if any: GF 1961/2003 | 8. ☐ other (specify): |

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

Södertälje, 10 December 2003



Christer Wahlström
Global Intellectual Property, AstraZeneca AB

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply.

☐ The applicant has been informed accordingly.

4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the period of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.

5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

For International Bureau use only

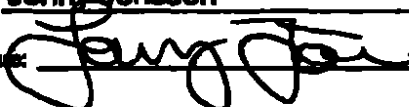
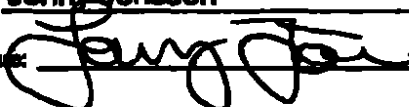
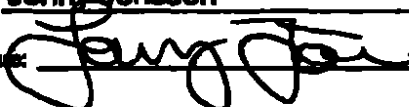
Demand received from IPEA on:

PCT

FEE CALCULATION SHEET

Annex to the Demand

CHAPTER II

International application No. PCT/SE03/00858 Applicant's or agent's file reference 100707-1 WO Applicant AstraZeneca AB et al	For International Preliminary Examining Authority use only Date stamp of the IPEA								
CALCULATION OF PRESCRIBED FEES									
1. Preliminary examination fee	SEK 5 000:- P								
2. Handling fee (<i>Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the handling fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the amount to be entered at H is 25% of the handling fee.</i>)	SEK 1 410:- H								
3. Total of prescribed fees Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box	SEK 6 410:- TOTAL								
MODE OF PAYMENT <table style="width: 100%;"> <tr> <td>☒ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)</td> <td>☐ cash</td> </tr> <tr> <td>☐ cheque</td> <td>☐ revenue stamps</td> </tr> <tr> <td>☐ postal money order</td> <td>☐ coupons</td> </tr> <tr> <td>☐ bank draft</td> <td>☐ other (specify):</td> </tr> </table>		☒ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash	☐ cheque	☐ revenue stamps	☐ postal money order	☐ coupons	☐ bank draft	☐ other (specify):
☒ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash								
☐ cheque	☐ revenue stamps								
☐ postal money order	☐ coupons								
☐ bank draft	☐ other (specify):								
AUTHORIZATION TO CHARGE (OR CREDIT) DEPOSIT ACCOUNT (This mode of payment may not be available at all IPEAs) <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> ☒ Authorization to charge the total fees indicated above. ☒ (This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit) Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above. </td> <td style="vertical-align: top;"> IPEA/ <u>SE</u> Deposit Account No.: <u>1432</u> Date: <u>10 December 2003</u> Name: <u>Jenny Jönsson</u> Signature: <u></u> </td> </tr> </table>		☒ Authorization to charge the total fees indicated above. ☒ (This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit) Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	IPEA/ <u>SE</u> Deposit Account No.: <u>1432</u> Date: <u>10 December 2003</u> Name: <u>Jenny Jönsson</u> Signature: <u></u>						
☒ Authorization to charge the total fees indicated above. ☒ (This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit) Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	IPEA/ <u>SE</u> Deposit Account No.: <u>1432</u> Date: <u>10 December 2003</u> Name: <u>Jenny Jönsson</u> Signature: <u></u>								

Brigard & Castro

BOGOTA COLOMBIA

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros)

I (We) ASTRAZENECA AB

domiciliado(s) en

domiciled in 82-151-Bogertalja, Sweden

Nombro(amos) a RAMIRO CASTRO DUQUE y/o JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO S

de Bogotá Colombia apoderados verdaderos y legales con poder especial amplio y suficiente para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas judiciales y de policía en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención registros de marcas diseños industriales modelos de utilidad depósitos de nombres comerciales y enseñanzas registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales así como sus prórrogas renovaciones anotaciones de traspaso cambios de nombre y/o domicilio, elaborar tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez corporación funcionario público o autoridad en acciones judiciales administrativas y de policía tales como oposiciones al registro de marcas acciones de caducidad cancelación y nulidad acciones reivindicatorias acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias acciones de competencia desleal demandas penales acciones de indemnización de perjuicios reclamos y observaciones a solicitudes de patentes diseños industriales, modelos de utilidad en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares

A este efecto lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes formular descripciones enmiendas protestas declaraciones oposiciones cancelaciones nulidades apelaciones y reclamos pagar impuestos cuotas y gravámenes prescritos por la ley renunciar o desistír a derechos concedidos o en curso de concesión recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo y en general para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros intereses) con todas las demás facultades legales necesarias

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistír transigir comprometer y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones Asimismo nombro(amos) a RAMIRO CASTRO DUQUE y/o JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO S domiciliado(s) en la Carrera 7 No 16 56 Piso 9 mis (nuestros) apoderados en Colombia con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales

Otorgado y firmado en

hoy de de 200_

Firma

Nombre
Cargo

Hereby appoint RAMIRO CASTRO DUQUE and/or JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO S

of Bogotá Colombia my (our) true and lawful attorneys with special ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative judicial and police offices and authorities in any instance privileges of patents of invention registration of trademarks industrial designs and utility models registration of commercial names and emblems registration of copyright and contracts related thereto certificates of obtainers of vegetable varieties as well as extensions renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above to prepare prosecute and register licenses of any kind to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse and before any judge, corporation public official or authority in judicial administrative and police actions such as oppositions to the registration of trademarks caducity cancellation and nullity actions claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses action of unfair competition penal demands actions of indemnities for damages claims or observations on patent applications models industrial designs and utility models in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings

To that effect they are hereby empowered to file applications formulate descriptions enmiendas protestas declarations oposiciones cancelaciones nulidades appeals and claims, to pay taxes and assessments prescribed by law renounce or waive the rights granted or in the process of granting to receive all kind of documents and valuables giving the respective release of receipt and, in general to take before said authorities the necessary steps to such effect and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers

This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions At the same time I (We) hereby appoint RAMIRO CASTRO DUQUE and/or JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO S

domiciled in Carrera 7 No 16 56 Piso 9 my (our) attorney(s) in fact with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys

Granted and signed in Macclesfield, Cheshire,

this 18th day of July 2003

Signature

Name KEVIN BILL

Title Director, IP Services

120316

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Hoy de de
personalmente compareció ante mí

a quien conozco y de quien me consta que firmó el
anterior documento debidamente juramentado declaró
y dijo que él es

de

Sociedad legalmente constituida para un período de
duración que aún no ha terminado que el declarante
está autorizado por dicha compañía para conferir este
poder que el sello estampado por él al pie de tal poder
en nombre y representación de la expresada compañía
es el sello oficial de ella y que el objeto para el cual se
confiere este instrumento está comprendido dentro del
de la sociedad

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la vista las
pruebas de la existencia de la sociedad

Estado de
on fecha

y que quien confiere el presente poder es su
representante

Notario Público (sello)

**CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL**

Hoy de de , compareció(eron)
ante mí

a quien (as) conozco y me consta que as(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede y
quien(ese) declara(n) que otorgan el mismo para los
fines y propósitos que en él se expresan

Notario Público (sello)

LEGALIZACION POR APOSTILLA ES REQUERIDA.

On this 18th day of July 2003 of
personally appeared before me

to me known and known to me to be the person who
signed the foregoing instrument who being by me duly
sworn did depose and say that he (she) is the

of

Which is legally constituted for a term not yet expired
that deponent is authorized by said Company to confer
this Power of Attorney that the seal affixed hereon
by the deponent in the name and on behalf of said
Corporation is the corporate seal thereof and that
purpose for which this instrument is granted
included within the corporate purpose of company

The undersigned Notary Public attests that he has seen
the documents that prove the existence of the
company

State of Sweden
under date of 1st January 2003

and that he (she) who grants the present power of
attorney is its Representative

Notary Public (Seal)

**NOTARIAL CERTIFICATE
NATURAL PERSON**

On this day of of
personally appeared before me

who is(are) known to me and who I attest executed
the foregoing document and he (they) declared he
(they) grant(s) the document for the uses and purposes
therein expressed

Notary Public (Seal)

LEGALIZATION BY APOSTILLE IS REQUIRED

2-9-7/38

T
P
S
E
Y
C

APOSTILLE

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

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

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

This public document / Le présent acte public

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

Certified/Attesté

- 5 at London/à Londres

6. the/le 17 February 2004

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

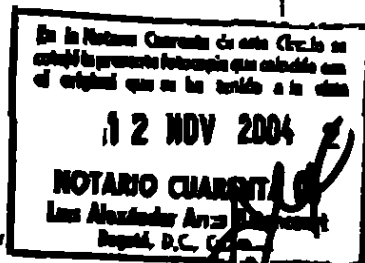
8. Number/sous No **G348987**

- 9 Stamp:
timbre

10. Signature: J. Ireland



[Handwritten signature]



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

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

259
22

TRADUCCIÓN SIMPLE AL ESPAÑOL del la Apostilla que vienen junto con el Certificado Notarial (Sociedad) y el Poder concedido por **ASTRAZENECA AB**, domiciliada en SE - 151 Sodertälje, Suecia a **Ramiro Castro Duque y/o Juan Pablo Cadena Sarmiento y/o Beatriz Jaramillo S**, domiciliados en la Carrera 7 #16-56, P. 9, Bogotá D.C., Colombia.

AUTENTICACIÓN

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

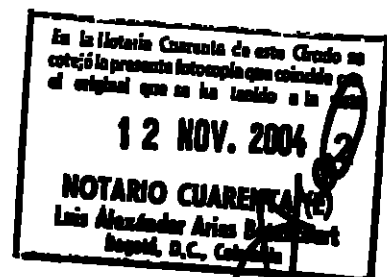
1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
2. Este documento público
ha sido firmado por **J. B. Hodgson**
3. actuando en capacidad de **Notario Público**
4. lleva el sello de: **Dicho Notario Público**

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 17 de Febrero de 2004
7. por El secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y de la Comunidad
8. No. **G348987**
9. Sello
10. Firma

J. Ireland (Firma)

Si este documento va a ser utilizado en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961, debe ser presentado a la sección consular de la misión que representa a ese país.





GAVIRI A

ORGANIZACION ELECTORAL
REGISTRADURÍA NACIONAL DEL ESTADO CIVIL

REGISTR CIVIL DE DEFUNCIÓN

Indicativo 5562241
Serial

20
10
30
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100

Datos de la oficina de registro									
Clase de oficina:	Registraduría	Notaría	☒	Consulado	Corregimiento	Ins. de Policía	Código	9795	
Pais: COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTA D.C. NOTARIA 32.									

Datos del inscrito	
Apellidos y nombres completos	
CASTRO DUQUE RAMIRO	
Documento de identificación (Clase y número)	Sexo (en Letras)
C.C.No. 170322 DE BOGOTA	MASCULINO

Datos de la defunción	
Lugar de la Defunción: Pais - Departamento - Municipio - Corregimiento o Inspección de Policía	
COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTA D.C.	

Fecha de la defunción		Hora	Número de certificado de defunción
Año	2004	04:10 PM	A- 2094375.

Presunción de muerte	
Lugar que profiere la presunción	
Fecha de la presunción	
Documento presentado	
Autorización judicial	Certificado Médico
☐	☒
Nombre y cargo del funcionario	
ANDRES DIAZ CAMPOS.-	
R.M. No. 79982662	

Datos del denunciante	
Apellidos y nombres completos	
EDGAR DAVID REGINO H.	
Documento de identificación (Clase y número)	Firma
C.C.No. 15.030.154 DE LORICA/ CORDOBA	

Primer testigo	
Apellidos y nombres completos	
Documento de identificación (Clase y número)	
Firma	

Segundo testigo	
Apellidos y nombres completos	
Documento de identificación (Clase y número)	
Firma	

Fecha de inscripción		Nombre y cargo del funcionario que declara	
Año	2004	Blanca	RESTREPO

PADRES: ALFON SO CASTRO	
MERCEDES DUQUE.	

ORIGINAL PARA LA OFICINA DE REGISTRO

NOTARIA 32

DEL CIRCULO DE SANTA FE DE BOGOTA, D.C.

Germán Eleázar Moreno L.
Notario

30
COMO SECRETARIO DELEGADO DE LA NOTARIA TREINTA Y DOS (32) DEL
CIRCULO DE BOGOTA

CERTIFICO, QUE:

La presente acta es fiel copia del original tomada del registro
civil de defunciones serial indicativo número: 5562249.....
que expido en la ciudad de Bogotá D.C. hoy: 11 de Nov. 2014.....

NELSON FLOREZ O
SECRETARIO DELEGADO

302261

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION	()	()
MODELO DE UTILIDAD	()	()
Indicación de que se solicita la concesión de una patente	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
Descripción de la invención	()	()
Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	()	()
- Representación gráfica o fotografica del Diseno Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud	()	()
Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable



Fecha

PETITORIO

AS: 95.685

303/02

04-121339

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 04121339 .00000000

Folios: 381

Fecha (AMB): 2004-12-01 17:25:41

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FÓRMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT fecha Presentación: 01/12/2004

fecha límite ENTRADA EN FASE NACIONAL : 31/12/2004

1 SOLICITUD DE:			
☒ Patente de Invención.		☐ Patente de Modelo de Utilidad.	
☐ Capítulo I.		☒ Capítulo II.	
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: ASTRAZENECA AB Dirección: S-151 85 Sodertälje, Suecia Nacionalidad o Domicilio: Suecia Lugar de Constitución: Suecia Teléfono: Fax E-mail		IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9 Teléfono: 380-2200 Fax: 380-2700 E-mail:		IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número 80.410.337 TP 57492
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: Anders Magnusson, Mikael Thune Dirección: AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, Suecia (Respectivamente) Nacionalidad o Domicilio: Suecia (Respectivamente)		
5 PCT (88) Solicitud Internacional No. <u>PCT/SE03/00858</u> Fecha <u>27-05-2003</u> Publicación Internacional No. <u>WO 03/101424 A1</u> Fecha <u>11-12-2003</u>			
8 Título (54): <u>FÓRMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN MODIFICADA</u>			
7 Clasificación Internacional (51) <u>A61K9/00</u> <u>A61K31/397</u> ; <u>A61P9/22</u>			
8 Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
SI ☒ NO ☐	<u>SE</u>	<u>31-05-2002</u>	<u>0201659-0</u>
9 Contratación de Depósito No. <u>01-00-18</u> Fecha <u>28-11-2004</u>			

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

PETITORIO

AS: 95.685

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

04-121339

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación: 04121339, 00000000 Folios: 301
Fecha (AMB): 2004-12-01 17:25:41
Trámite: 011 PCT-PATENT 379 FASE NNCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT fecha Presentación: 01/12/2004

fecha límite ENTRADA EN FASE NACIONAL: 31/12/2004

1

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☐ Capítulo I.☒ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: ASTRAZENECA AB

Dirección: S-151 85.Sodertälje, Suecia

Nacionalidad o Domicilio: Suecia

Lugar de Constitución: Suecia

Teléfono:

Fax

E-mail

IDENTIFICACION

C.C. ☐NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9

Teléfono: 380-2200

Fax: 380-2700

E-mail:

IDENTIFICACION

C.C. ☒NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual _____

Número 80.410.337 TP 57482

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: Anders Magnusson, Mikael Thune

Dirección: AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, Suecia (Respectivamente)

Nacionalidad o Domicilio: Suecia (Respectivamente)

5 PCT (88)

Solicitud Internacional No. PCT/SE03/00858 Fecha 27-05-2003

Publicación Internacional No. WO 03/101424 A1 Fecha 11-12-2003

8 Título (54): FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN MODIFICADA

7 Clasificación Internacional (51) A61K9/00 A61K31/397; A61P9/22

8 Prioridad

SI ☒NO ☐(33) País de
Origen

SE

(32) Fecha

31-05-2002

(31) Número de Solicitud

0201659-0

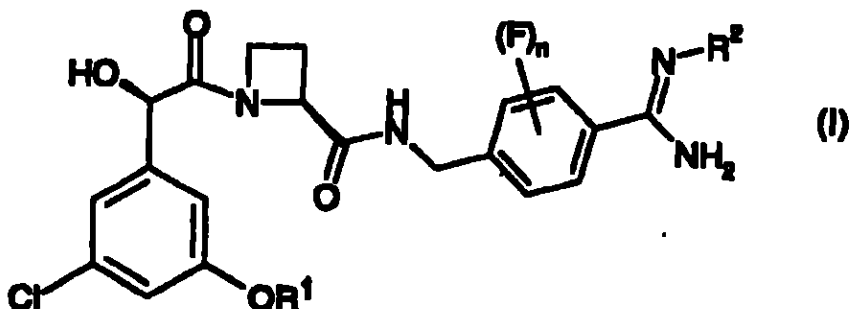
9 Certificado de prioridad No. 04-121339

Fecha: 20-11-2004

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

263
304263
304REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica de liberación modificada que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de fórmula (I):



en donde

R^1 representa C_{1-2} alquilo sustituido por uno o más sustituyentes fluoro;

R^2 representa hidrógeno, hidroxilo, metoxi o etoxi, y

n representa 0, 1 ó 2;

o su sal farmacéuticamente aceptable; y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptables; con la condición que la formulación pueda contener únicamente iota-carragenina y un polímero gelificante neutro cuando el compuesto de fórmula (I) está en la forma de una sal.

2. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1 en donde el ingrediente activo es una sal de:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); o

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

3. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1 ó 2 en donde el ingrediente activo es una sal cristalina de:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); o

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe);

264
305

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
JUAN PABLO CADENA SARMIENTO
Apoderado(a)
ASTRAZENECA AB

Oficio N°
11486

ASUNTO:

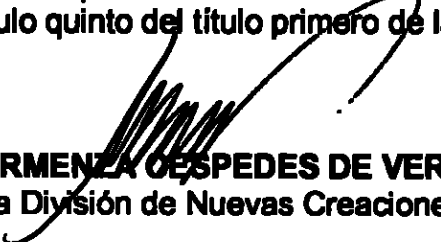
Radicación N°	04-121339
Solicitud internacional	PCT/SE03/00858
Fecha inicio fase nacional	31/12/2004
Trámite	011
Evento	379
Actuación	430
Folios	001

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

- El solicitante deberá anexar la traducción del documento en que consta la cesión del derecho de patente del inventor al solicitante o a su causante establecido, de acuerdo con la regla 4.17 51 bis PCT. (Art. 26-k) Decisión 486). Folios 51-53.
- El solicitante debe presentar un nuevo título, que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente (Regla 4.3 PCT, Art. 27, 27 Decisión 486, Circular Única 5.2.9).

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA OSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,
17 DIC. 2004.

202044