

Q.F.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No.

04-121764

54. TITULO

FORMULACION FARMACEUTICA DE LIBERACION INMEDIATA

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K31/397 ; A61P9/10

71. SOLICITANTE

ASTRAZENECA AB

DOMICILIO

SODERTALJE. SUECIA

74. APODERADO

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22. SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

02/12/2004

Q.F.

SS

PETITORIO

AS: 95.688



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicación : 04121764 00000000 Folios: 215
 Fecha (ANI): 2004-12-02 16:46:38
 Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 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 80.410.337 TP 57492

4

INVENTOR (ES)
 (72)

Nombre: Susanna Alami Abrahmsén, Tord Inghardt, Anders Magnusson, Carl-Gustaf Siggfridsson, Mikael Thune

Dirección: AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; 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. PCT/SE03/00857 Fecha 27-05-2003

Publicación Internacional No. WO 03/101423 A1 Fecha 11-12-2003

9

Título (54): FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN INMEDIATA

7

Clasificación Internacional (51) A61K9/00 // A61K31/397 ; A61P9/10.

8 Prioridad

SI ☒

NO ☐

(33) País de
 Origen

SE

(32) Fecha

31-05-2002

(31) Número de Solicitud

0201658-2

6

Comprobante de pago No. 04-82-880

Fecha 30-11-2004

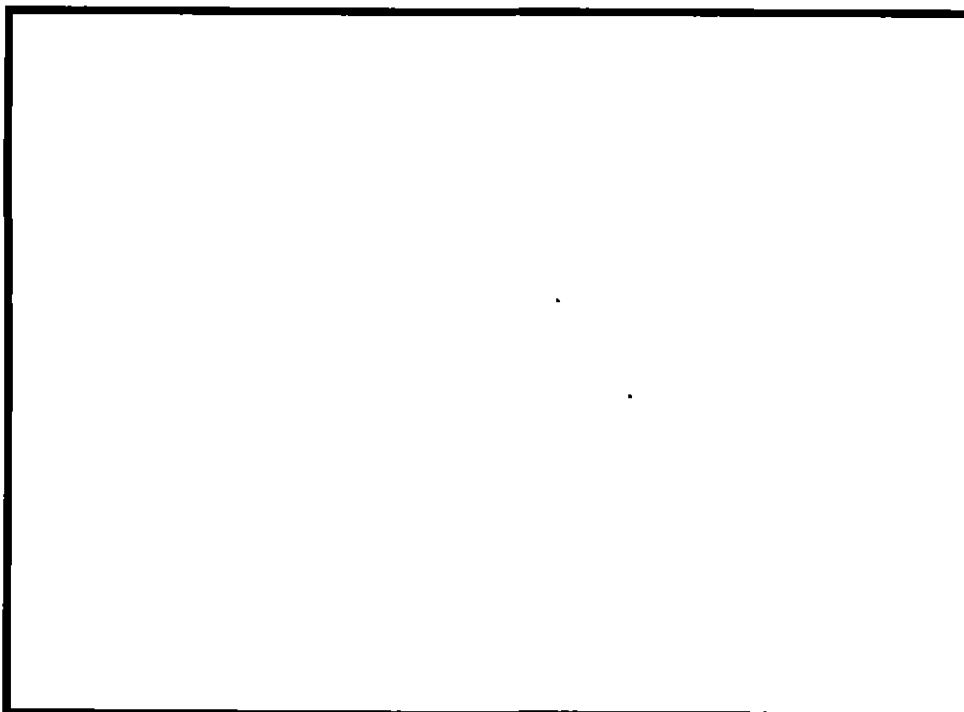
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

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 fuere el caso. Fotocopia Autenticada Anexa
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☒ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros Tarjeta de Propietarios

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Datos personales de la patente

INVENTOR: JUAN PABLO CADENA SANTAMARÍA

ABOGADO: [Firma]

C.C. 86.418.376. Medellín, T.P. 57492 66 65 1

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

33

MIT : 300176089- Radicacion : 04121764 00000000
Fecha (ANO): 2004-12-02 16:46:38
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 215

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 82,980
FECHA : OCTUBRE 21 DE 2004

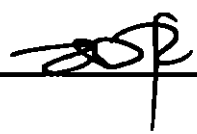
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
ERIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	21591355	20/10/2004	16,050,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. REENTISTADO	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. _____

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
11 December 2003 (11.12.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/101423 A1(51) International Patent Classification: A61K 9/00,
31/397, A61P 9/00

(21) International Application Number: PCT/SE03/00857

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

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 0201658-2 31 May 2002 (31.05.2002) SE

(71) Applicant (for all designated States except US): AS-
TRAZENECA AB [SE/SE]; S-151 85 Södertälje (SE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): ABRAHMSÉN
ALAMI, Susanna [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal,
S-431 83 Mölndal (SE). INGHARDT, Tord [SE/SE];
AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE).
MAGNUSSON, Anders [SE/SE]; AstraZeneca R &
D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE). SIGFRIDSSON,
Carl-Gustaf [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431
83 Mölndal (SE). THUNE, Mikael [SE/SE]; AstraZeneca
R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE).(74) Agent: GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY; As-
traZeneca AB, S-151 85 Södertälje (SE).(81) 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, 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, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KH, 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).

Declaration under Rule 4.17:

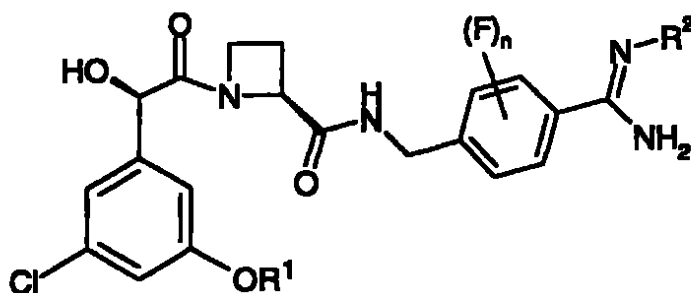
— as to applicant's entitlement to apply for and be granted
a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE,
AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, 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,
KH, 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)

Published:

— with international search report

[Continued on next page]

(54) Title: IMMEDIATE RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION



(I)

(57) Abstract: According to the present invention there is provided an immediate release pharmaceutical formulation comprising, as active ingredient, a compound of formula (I), wherein R_1 represents C₇₁-28191 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 when the active ingredient is other than in the form of a salt the formulation does not solely contain: a solution of one active ingredient and water; a solution of one active ingredient and dimethylsulphoxide; or a solution of one active ingredient in a mixture of ethanol : PBG 660 12-hydroxy stearate : water 5:5:90; such formulations being of use for the treatment of a cardiovascular disorder.



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.

65

IMMEDIATE RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION

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

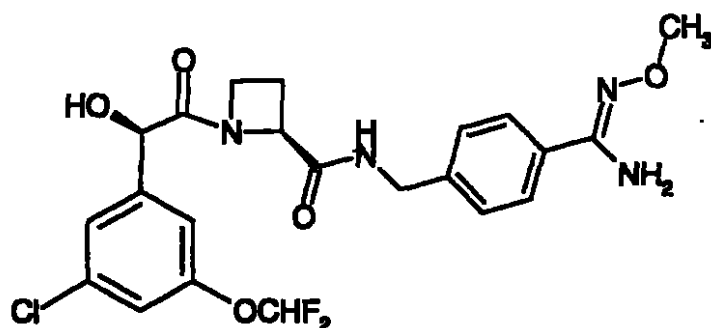
It is often desirable to formulate pharmaceutically active compounds for immediate release following oral and/or parenteral administration with a view to providing a sufficient concentration of drug in plasma within the time-frame required to give rise to a desired therapeutic response.

Immediate release may be particularly desirable in cases where, for example, a rapid therapeutic response is required (for example in the treatment of acute problems), or, in the case of parenteral administration, when peroral delivery to the gastrointestinal tract is incapable of providing sufficient systemic uptake within the required time-frame.

In the case of the treatment or prophylaxis of thrombosis, immediate release formulations may be necessary to ensure that a sufficient amount of drug is provided in plasma within a relatively short period of time to enable quick onset of action. Immediate release formulations are also typically simpler to develop than modified release formulations, and may also provide more flexibility in relation to the variation of doses that are to be administered to patients. Immediate release formulations are superior when multiple doses are not required and where it is not necessary to keep the plasma concentration at a constant level for an extended time.

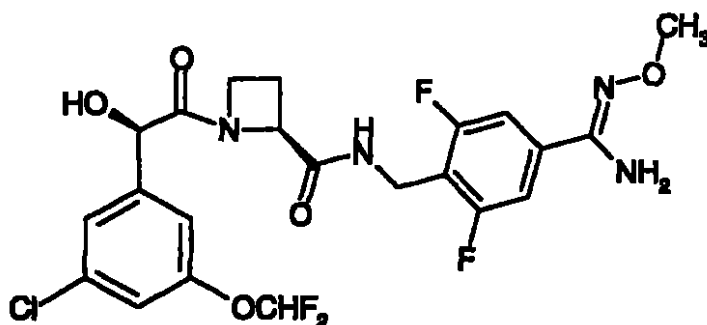
International Patent Application No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, earliest priority date 01 December 2000, filed 30 November 2001, published 06 June 2002) discloses a number of compounds that are, or are metabolised to compounds which are, competitive inhibitors of trypsin-like proteases, such as thrombin.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

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



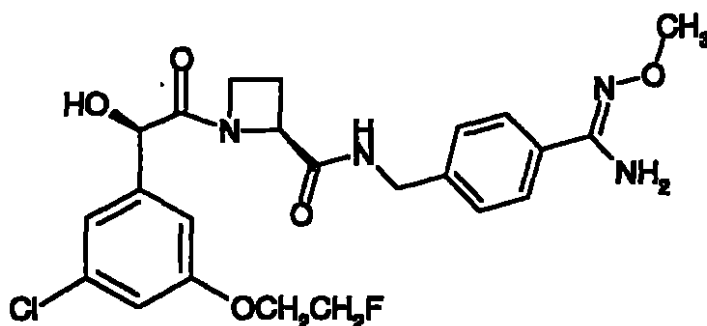
which compound is referred to hereinafter as Compound A;

(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.

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

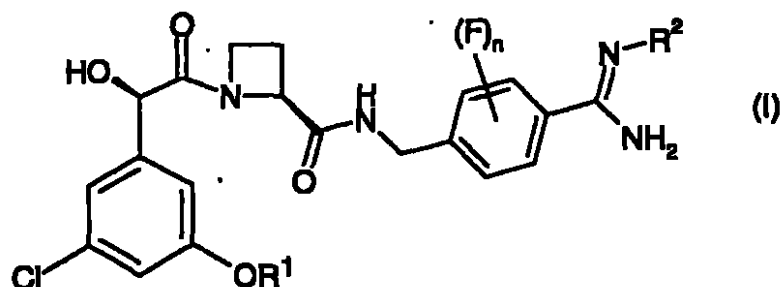
- Compound A is metabolized to Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab
 (which compound is referred to hereinafter as Compound D) via a prodrug intermediate

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OH) (which compound is referred to hereinafter as Compound G);

- Compound B is metabolized to Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF) (which compound is referred to hereinafter as Compound E) via a prodrug intermediate Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab (which compound is referred to hereinafter as Compound F) via a prodrug intermediate Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(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 No. PCT/SE01/02657. An immediate release formulation of these compounds, or their metabolites has yet to be described in the literature. We have found that the compounds of formula (I) and their salts can be formulated as immediate release pharmaceutical formulations which are easy to administer, for example by oral or parenteral administration.

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



wherein

R¹ represents C₁₋₂ 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 does not solely contain:

- a solution of one active ingredient and water;
- 5 • a solution of one active ingredient and dimethylsulphoxide; or,
- a solution of one active ingredient in a mixture of ethanol : PEG 660 12-hydroxy stearate : water 5:5:90;

which formulations are referred to hereinafter as "the formulations of the invention".

PEG 660 12-hydroxy stearate is a non-ionic surfactant and is better known as
10 Solutol KTM.

According to a second aspect of the present invention there is provided Compound H, $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)\text{-(S)Azo-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OH})$ which can be prepared by methods similar to those described below for the preparation of Compounds G and J.

The compounds of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, may
15 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 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$.

20 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 $\text{-NH-CH}_2\text{-}$ group).

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

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
30 acid. More preferred acid addition salts include those of organic acids, such as those of

87

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 C₁₋₆ (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 ethanesulfonic acid, propanesulfonic acid (for example *n*-propanesulfonic acid) and optionally substituted arylsulfonic acids, such as benzenesulfonic acid and naphthalenedisulfonic acid.

The term "immediate release" pharmaceutical formulation includes any formulation in which the rate of release of drug from the formulation and/or the absorption of drug, is neither appreciably, nor intentionally, retarded by galenic manipulations. In the present case, immediate release may be provided for by way of an appropriate pharmaceutically acceptable diluent or carrier, which diluent or carrier does not prolong, to an appreciable extent, the rate of drug release and/or absorption. Thus, the term excludes formulations which are adapted to provide for "modified", "controlled", "sustained", "prolonged", "extended" or "delayed" release of drug.

In this context, the term "release" includes the provision (or presentation) of drug from the formulation to the gastrointestinal tract, to body tissues and/or into systemic circulation. For gastrointestinal tract release, the release is under pH conditions such as pH = 1 to 3, especially at, or about, pH = 1. In one aspect of the invention a formulation as described herein with a compound of formula (I), or an acid addition salt thereof, in crystalline form releases drug under a range of pH conditions. In another aspect of the invention a formulation as described herein with a compound of formula (I), or an acid addition salt thereof, releases drug under pH conditions such as pH = 1 to 3, especially at, or about, pH = 1. Thus, formulations of the invention may release at least 70% (preferably 80%) of active ingredient within 4 hours, such as within 3 hours, preferably 2 hours, more

preferably within 1.5 hours, and especially within an hour (such as within 30 minutes), of administration, whether this be oral or parenteral.

The formulations of the invention may be formulated in accordance with a variety of known techniques, for example as described by M. E. Aulton in *"Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design"* (1988) (Churchill Livingstone), the relevant disclosures in which document are hereby incorporated by reference.

Formulations of the invention may be, or may be adapted in accordance with standard techniques to be, suitable for peroral administration, for example in the form of an immediate release tablet, an immediate release capsule or as a liquid dosage form, comprising active ingredient. These formulation types are well known to the skilled person and may be prepared in accordance with techniques known in the art.

Suitable diluents/carriers (which may also be termed "fillers") for use in peroral formulations of the invention, for example those in the form of immediate release tablets, include monobasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate (including dibasic calcium phosphate dihydrate and dibasic calcium phosphate anhydrate), tribasic calcium phosphate, lactose, microcrystalline cellulose, silicified microcrystalline cellulose, mannitol, sorbitol, starch (such as maize, potato or rice), glucose, calcium lactate, calcium carbonate and the like. Preferred diluents/carriers include dibasic calcium phosphate and microcrystalline cellulose, which may be used alone or in combination with another diluent/carrier such as mannitol.

A formulation of the invention in the form of an immediate release tablet may comprise one or more excipients 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 immediate release formulations for peroral drug delivery, and include one or more of the following: one or more lubricants (such as magnesium stearate, stearic acid, calcium stearate, stearyl alcohol or, preferably, sodium stearyl fumarate); a glidant (such as talc or a colloidal silica); one or more binders (such as polyvinylpyrrolidone, microcrystalline cellulose, a polyethylene glycol (PEG), a polyethylene oxide, a hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) of a low molecular weight, a methylcellulose (MC) of a low molecular weight, a hydroxypropylcellulose (HPC) of a low

molecular weight, a hydroxyethylcellulose (HEC) of a low molecular weight, a starch (such as maize, potato or rice) or a sodium carboxymethyl cellulose of a low molecular weight; (preferred binders are polyvinylpyrrolidone or a HPMC of a low molecular weight); one or more pH controlling agents (such as an organic acid (for example citric acid) or an alkali metal (for example sodium) salt thereof, an oxide of magnesium, an alkali or alkaline earth metal (for example sodium, calcium or potassium) sulphate, metabisulphate, propionate or sorbate); one or more disintegrant (for example sodium starch glycolate, a crosslinked polyvinylpyrrolidone, a crosslinked sodium carboxymethyl cellulose, a starch (such as maize, potato or rice) or an alginate); a colourant, a flavouring, a tonicity-modifying agent, a coating agent or a preservative.

It will be appreciated that some of the above mentioned excipients which may be present in a final immediate release oral (for example tablet) formulation of the invention may have more than one of the above-stated functions.

In a further aspect of the invention a liquid formulation of the invention is adapted to be suitable for oral administration.

Suitable liquid formulations that are to be administered orally include those in which a compound of formula (I) especially Compound A, Compound B or Compound C, or a pharmaceutically acceptable salt thereof is presented together with an aqueous carrier, such as water. It will be noted however, that certain specific formulations are not claimed (see particular aspects and the claims).

A formulation of the present invention comprising an aqueous carrier may further comprise one or more excipients, such as an antimicrobial preservative; a tonicity modifier (for example sodium chloride, mannitol or glucose); a pH adjusting agent (for example a common inorganic acid or base, including hydrochloric acid or sodium hydroxide); a pH controlling agents (that is, a buffer; for example tartaric acid, acetic acid or citric acid); a surfactant (for example Sodium dodecyl sulphate (SDS) or SolutolTM); a solubiliser which serves to help solubilise the active ingredient (for example ethanol, a polyethylene glycol or hydroxypropyl- β -cyclodextrin or polyvinyl chloride (PVP)); or an antioxidant.

Liquid oral formulations may be in the form of suspensions of active ingredient in association with an aqueous solvent or, more preferably aqueous

solutions (that is, solutions of active compound including water as a solvent). In this context, the term "aqueous solution" includes formulations in which at least 99% of active ingredient is in solution at above 5°C and atmospheric pressure, and the term "suspension" means that more than 1% of active ingredient is not in solution under such conditions. Typical dispersion agents for suspensions are hydroxypropyl methylcellulose, AOT (dioctylsulfosuccinate), PVP and SDS. Other alternatives may be possible.

In another aspect the present invention provides a liquid oral formulation comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, water and at least one additional agent. The additional agents include :

- i. polyethylene glycol (PEG) and optionally also ethanol and/or tartaric acid and/or citric acid and/or hydrochloric acid; or
- ii. sodium chloride (which will be dissolved in the formulation), and optionally also ethanol; or
- 15 iii. hydrochloric acid and/or sodium hydroxide to bring the pH to a suitable value (preferably in the range 3 - 8 for a compound of formula (I) wherein R² is methoxy or ethoxy, such as Compound A, B or C); or
- iv. DMA (dimethyl acetamide) and optionally also a medium chain triglyceride (such as miglyol); or
- 20 v. a β -cyclodextrin (such as hydroxypropyl- β -cyclodextrin);
- vi. a tonicity modifier such as sodium chloride and/or mannitol.

In a further aspect the present invention provides an oral solution comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, (preferably Compound A, B or C) water and at least one additional agents as recited in (i) to (vi) above.

25 In another aspect the invention provides an aqueous formulation of a compound of formula (I) (such as Compound A, B or C) comprising a solubilising agent such as a polyethylene glycol, β -cyclodextrin (such as hydroxypropyl- β -cyclodextrin), sorbitol or ethanol.

In a further aspect the present invention provides an oral solution formulation comprising a compound of formula (I) and ethanol. This formulation can further comprise a medium chain triglyceride (such as miglyol).

In a still further aspect the present invention provides an oral solution formulation
5 comprising a compound of formula (I) and DMA. This formulation can further comprise a medium chain triglyceride (such as miglyol).

In another aspect the compound of formula (I) is crystalline (especially a salt of Compound A; preferably a C₁₋₆ (for example C₂₋₆, such as C₂₋₄) alkanesulfonic acid salt, such as ethanesulfonic acid, propanesulfonic acid (for example *n*-propanesulfonic acid) or
10 an optionally substituted arylsulfonic acid salt, such as benzenesulfonic acid or naphthalenedisulfonic acid salt).

A particular liquid immediate release oral pharmaceutical formulation as claimed in claim 1 is provided wherein the active ingredient is:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe),
15 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe),
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe),
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

A further particular liquid immediate release oral pharmaceutical formulation as claimed in claim 1 is provided wherein the active ingredient is:

20 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) or a C₁₋₆ alkanesulfonic acid or an optionally substituted arylsulfonic acid salt thereof.

A yet further particular liquid immediate release oral pharmaceutical formulation as claimed in claim 1 is provided wherein the active ingredient is:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe) or an optionally
25 substituted arylsulfonic acid salt thereof (such as the naphthalene-1,5-disulphonic acid salt).

It will be noted however, that certain specific formulations are not claimed (see particular aspects and the claims).

In a further aspect of the invention a formulation of the invention is adapted to be
30 suitable for parenteral administration. The term "parenteral" includes any mode of

administration that does not comprise peroral administration to the gastrointestinal tract and includes administration subcutaneously, intravenously, intraarterially, transdermally, intranasally, intrabuccally, intracutaneously, intramuscularly, intralipomateously, intraperitoneally, rectally, sublingually, topically, by inhalation, or by any other parenteral route.

Suitable formulations of the invention that are to be administered parenterally include those in which a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof is presented together with an aqueous carrier, such as water.

A formulation of the present invention comprising an aqueous carrier may further comprise one or more excipients, such as an antimicrobial preservative; a tonicity modifier (for example sodium chloride, mannitol or glucose); a pH adjusting agent (for example a common inorganic acid or base, including hydrochloric acid or sodium hydroxide); a pH controlling agents (that is, a buffer, for example tartaric acid, acetic acid or citric acid); a surfactant (for example sodium dodecyl sulphate (SDS) or Solutol™); a solubiliser which serves to help solubilise the active ingredient (for example ethanol, a polyethylene glycol or hydroxypropyl- β -cyclodextrin or polyvinyl chloride (PVP)); or an antioxidant.

Parenteral formulations may be in the form of suspensions of active ingredient in association with an aqueous solvent or, more preferably aqueous solutions (that is, solutions of active compound including water as a solvent). In this context, the term "aqueous solution" includes formulations in which at least 99% of active ingredient is in solution at above 5°C and atmospheric pressure, and the term "suspension" means that more than 1% of active ingredient is not in solution under such conditions. Typical dispersion agents for suspensions are hydroxypropyl methylcellulose, AOT, PVP and SDS, but other alternatives are possible.

The number of excipients employed in the peroral and parenteral formulations of the invention depends upon many factors, such as the nature and amount of active ingredient present, and the amount of diluent/carrier (aqueous solvent or otherwise) that is included.

In another aspect the present invention provides a parenteral formulation comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, water and at least one additional agents. The additional agents include:

- i. polyethylene glycol (PEG) and optionally also ethanol and/or tartaric acid and/or hydrochloric acid; or
- ii. sodium chloride (which will be dissolved in the formulation), and optionally also ethanol; or
- 5 iii. hydrochloric acid and/or sodium hydroxide to bring the pH to a suitable value (preferably in the range 3-8 for a compound of formula (I) wherein R^2 is hydrogen, such as Compound D, E or F; or preferably in the range 3.5-8 for a compound of formula (I) wherein R^2 is methoxy or ethoxy, such as Compound A, B or C); or
- iv. DMA (dimethyl acetamide) and optionally also a medium chain triglyceride (such as miglyol); or
- 10 v. a β -cyclodextrin (such as hydroxypropyl- β -cyclodextrin);
- vi. a tonicity modifier such as sodium chloride and/or mannitol.

In a further aspect the present invention provides an injectable solution comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, (preferably
15 Compound D, E or F) water and at least one additional agents as recited in (i) to (vi) above.

In another aspect the invention provides an aqueous formulation of a compound of formula (I) (such as Compound D, E or F) comprising a solubilising agent such as a polyethylene glycol, β -cyclodextrin (such as hydroxypropyl- β -cyclodextrin), sorbitol or ethanol.

20 In a further aspect the present invention provides a parenteral formulation comprising a compound of formula (I) and ethanol. This formulation can further comprise a medium chain triglyceride (such as miglyol).

In a still further aspect the present invention provides a parenteral formulation comprising a compound of formula (I) and DMA. This formulation can further comprise a
25 medium chain triglyceride (such as miglyol).

In another aspect the compound of formula (I) is crystalline (especially a salt of Compound A; preferably a C_{1-6} (for example C_{2-6} , such as C_{2-4}) alkanesulfonic acid salt, such as ethanesulfonic acid, propanesulfonic acid (for example *n*-propanesulfonic acid) or an optionally substituted arylsulfonic acid salt, such as benzenesulfonic acid salt).

In yet another aspect the formulation of the present invention is in a solid dosage form wherein R^2 is hydroxy, methoxy or ethoxy (preferably methoxy) (the compound of formula (I) is especially Compound A, Compound B or Compound C).

In yet another aspect the present invention provides a parenteral formulation

5 (especially a water-based, injectable solution) comprising a compound of formula (I) in free base form.

In a further aspect the present invention provides a parenteral formulation comprising a compound of formula (I) in free base form wherein R^2 is hydrogen.

10 In a still further aspect the present invention provides a solid formulation comprising microcrystalline cellulose and polyvinyl pyrrolidone (PVP), or comprising microcrystalline cellulose and sodium starch glycolate.

Formulations of the invention, such as parenteral formulations, comprising salts may be prepared by addition of diluent/carrier to the appropriate pre-prepared salt.

Compositions including active ingredient may also be provided in solid form

15 suitable for use in the preparation of a formulation of the invention (for example a solution, such as an aqueous solution, for example for parenteral administration) *ex tempore*. Such compositions may be in the form of a solid comprising active ingredient, optionally in the presence of one or more further excipients as hereinbefore defined and, optionally, up to 10% (w/w) of diluent and/or carrier as hereinbefore defined, which compositions are hereinafter referred to as "the solid compositions of the invention".

20 Solid compositions of the invention may be made by removal of diluent/carrier (for example solvent) from a formulation of the invention, or a concentrated formulation of the invention, which may for example be in the form of a solution, such as an aqueous solution.

25 In another aspect the present invention provides an orally administrable, immediate release formulation comprising a compound of formula (I), or a salt thereof, a carrier (such as microcrystalline cellulose), a disintegrant (such as sodium starch glycolate), a binder (such as polyvinyl pyrrolidone) and a lubricant (such as sodium stearyl fumarate). Such a formulation may also comprise an additional carrier (or filler) such as

30 mannitol.

Formulations of the invention that are in the form of immediate release tablets may be prepared by bringing active ingredient into association with diluent/carrier using standard techniques, and using standard equipment, known to the skilled person, including wet or dry granulation, direct compression/compaction, drying, milling, mixing, tableting
5 and coating, as well as combinations of these processes, for example as described hereinafter. In one aspect of the invention, acid addition salts of compounds of formula (I) in crystalline form are formulated in tablets.

There is thus provided a process for the formation of a solid composition suitable for use in the preparation of a formulation of the invention (for example a solution, such as
10 an aqueous solution) *ex tempore*, which process comprises removal of diluent/carrier (for example solvent) from a formulation of the invention, or a concentrated formulation of the invention.

Solvent may be removed by way of a variety of techniques known to those skilled in the art, for example evaporation (under reduced pressure or otherwise), freeze-drying, or
15 any solvent removal (drying) process that removes solvent (such as water) while maintaining the integrity of the active ingredient. An example of drying is freeze-drying.

Thus according to a further aspect of the invention there is provided a freeze-dried (lyophilised) solid composition of the invention.

In the preparation of solid compositions of the invention, the skilled person will
20 appreciate that appropriate additional excipients may be added at a suitable stage prior to removal of diluent/carrier. For example, in the case of aqueous solutions, pH may be controlled and/or adjusted as hereinbefore described. Furthermore, an appropriate additional excipient may be added with a view to aiding the formation of a solid composition of the invention during the process of diluent/carrier removal (for example
25 mannitol, sucrose, glucose, mannose or trehalose).

A solid composition of a compound of formula (I) or a salt thereof, thus includes a composition in which the solvent (for example water) content, other than a solvent of crystallization, is no more than 10%, such as less than 2% unbound solvent, such as water.

Formulations of the invention may be sterilised, for example by sterile filtration or
30 autoclavation, and/or filled into primary packages, such as vials, cartridges and pre-filled

syringes. Such processing steps may also take place prior to drying to form a solid composition of the invention.

Before administration, the dried solid composition may be reconstituted and/or diluted in, for instance, water, physiological saline, glucose solution or any other suitable
5 solution.

The amount of diluent/carrier in an oral (for example immediate release tablet) formulation of the invention depends upon many factors, such as the nature and amount of the active ingredient that is employed and the nature, and amounts, of any other constituents (for example further excipients) that are present in the formulation, but is
10 typically up to 40% (w/w), preferably up to 30%, more preferably up to 20%, and particularly up to 10% (w/w) of the final composition. The amount of additional excipients in such an oral formulation of the invention also depends upon factors, such as the nature and amount of the active ingredient that is employed, as well as the nature, and amounts, of any other constituents (for example diluents/carriers and/or other further excipients) that
15 are present in the formulation, but, for lubricants and glidants is typically up to 5% (w/w), and for binders and disintegrants is typically up to 10% (w/w) of the final composition.

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
20 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
25 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
30 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 According to a further aspect of the present invention, there is provided a method of treatment of a condition where inhibition of thrombin is required which method comprises administration of a therapeutically effective amount 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

30 in the manufacture of a medicament for use in the treatment of thrombosis.

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.

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

Suitable amounts of active ingredient in formulations (oral or parenteral), concentrated formulations, and solid compositions, of the invention depend upon many factors, such as the nature of that ingredient (free base/salt etc), the dose that is required in an oral formulation or in a final "ready to use" parenteral formulation that is, or is to be, prepared, and the nature, and amounts, of other constituents of the formulation. However, a typical daily dose of a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is in the range 0.001-100 mg/kg body weight at peroral administration and 0.001-50 mg/kg body weight at parenteral administration, excluding the weight of any acid counter-ion, irrespective of the number of individual doses that are administered during the course of that day. In the case of an immediate release parenteral formulation administration may be continuous (for example by way of infusion). A preferred daily oral dose is 20-500mg and a preferred parenteral dose is in the range 0.1-50mg.

General Procedures

TLC was performed on silica gel. Chiral HPLC analysis was performed using a 46 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.

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 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
5 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.

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

Processes for the synthesis of compounds of formula (I) are contained in
10 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 information from which is incorporated herein.

Preparation A : Preparation of Compound A

15 (i) 3-Chloro-5-methoxybenzaldehyde

3,5-Dichloroanisole (74.0 g, 419 mmol) in THF (200 mL) was added dropwise to 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
20 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 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 sub-
25 title compound (38.9 g, 54%) as a yellow oil.

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).

30 (ii) 3-Chloro-5-hydroxybenzaldehyde

A solution of 3-chloro-5-methoxybenzaldehyde (22.8 g, 134 mmol; see step (i) 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, H_2O (50 mL) was added slowly. The solution was then extracted with Et_2O (2 x 100 mL). The organic layers were combined, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (5.2 g, 25%).

^1H NMR (300 MHz, 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-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, CHClF_2 was bubbled into the reaction mixture for 2 h. The reaction mixture was cooled, acidified with 1N HCl and extracted with EtOAc (2 x 100 mL). The organics were washed with brine (100 mL), dried (Na_2SO_4), 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, 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$

A solution of 3-chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde (4.6 g, 22.3 mmol; see step (iii) above) in CH_2Cl_2 (200 mL) was cooled to 0°C . ZnI_2 (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.

(v) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt

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
5 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 characterization.

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

10 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 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
15 the sub-title compound as a solid, which was used in step (vii) without further purification or characterization.

(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
20 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 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
25 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 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, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H), 5.16 (s, 1H)

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (a) and $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (b)

A mixture of $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (3.2 g, 12.7 mmol; see 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 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:concentrated NH}_4\text{OH}$ (6:3:1) yielding the ammonium salts of the sub-title compounds (a) and (b). Compound (a) as a salt was dissolved in H_2O , acidified with 2N HCl and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (a) (1.2 g, 37%).

For sub-title compound (a)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

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

To a solution of $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (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 concentrated *in vacuo* and flash chromatographed on silica gel (3 x), eluting first with $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$ (9:1), then with EtOAc:EtOH (20:1) and finally eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:CH}_3\text{OH}$ (95:5) to afford the sub-title compound (1.0 g, 37%) as a white solid.

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),
5 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; see step
10 (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 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
15 (Na₂SO₄), filtered and evaporated. Yield: 0.41 g (91%).

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),
20 2.68 (m, 1H), 2.42 (m, 1H) 0.97 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

(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
25 min. TFA was evaporated and the residue was partitioned between ethyl acetate 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%).

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 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 ether. The combined ether phase was washed with water, dried (Na₂SO₄) and evaporated. Yield: 2.0 g (30%).

15 20

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 concentrated sulfuric acid was added. The mixture was left at room temperature

30

A 17

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%).

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%).

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

(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

2019

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

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

20

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

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

Concentrated hydrochloric acid (100 mL) was added to $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH (a)}$ and $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)OH (b)}$

A solution of $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (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*

A²¹

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 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 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (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, 152.5.
- 30

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

✓ 322

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.

Preparation of Compound 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)

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.

Mp: 80-88°C

R_f = 0.60 (10:1 CHCl₃:EtOH)

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

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.

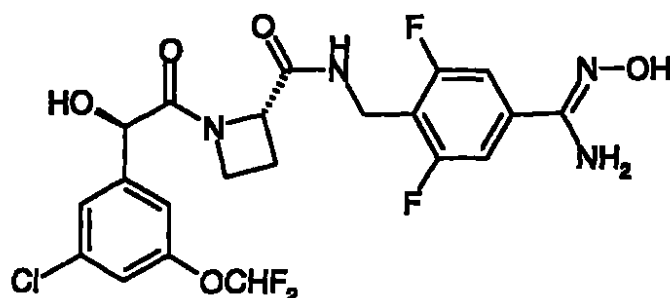
(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

- 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)



(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 mmol, 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-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, 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)

24

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(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, 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

(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
 25 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,
 30 3.16 mmol) were mixed in 8 mL of THF and sonicated for 1 h at 40°C. Ph(3-

25

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 acetonitrile:H₂O (1:1).
25 Freeze-drying afforded colorless amorphous material in each case.

Acids employed:

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

30 malic

- cyclohexylsulphamic
- phosphoric
- dimethylphosphoric
- p-toluenesulphonic
- 5 L-lysine
- 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-camphorsulfonate	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

2726

			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 (HCl)	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.

Method 2

Further amorphous salts of Compound A were made using analogous techniques

5 to those described in Method 1 above from the following acids:

hydrobromic acid (1:1 salt)

hydrochloric acid (1:1 salt)

sulphuric acid (1:0.5 salt)

1,2-ethanedisulfonic acid (1:0.5 salt)

10 1S-camphorsulfonic acid (1:1 salt)

(+/-)-camphorsulfonic acid (1:1 salt)

ethanesulfonic acid (1:1 salt)

nitric acid (1:1 salt)

toluenesulfonic acid (1:1 salt)

15 methanesulfonic acid (1:1 salt)

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)

20 benzenesulfonic acid (1:1 salt)

saccharinic acid (1:1 salt)

maleic acid (1:1 salt)

phosphoric acid (1:1 salt)

D-glutamic acid (1:1 salt)

25 L-glutamic acid (1:1 salt)

D,L-glutamic acid (1:1 salt)

L-arginine (1:1 salt)

L-lysine (1:1 salt)

L-lysine hydrochloride (1:1 salt)

30 glycine (1:1 salt)

27

salicylic acid (1:1 salt)

tartaric acid (1:1 salt)

fumaric acid (1:1 salt)

citric acid (1:1 salt)

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

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

D-gluconic acid (1:1 salt)

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

- 10 Compound A (203 mg; see Preparation A above) was dissolved in ethanol (3 mL) and 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
- 15 solvent evaporated again resulting in a white, dry, amorphous solid. The substance was vacuum dried at 40°C overnight.

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

Method 4 : Crystallisation of Amorphous Material

- 20 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 observed, which were filtered off and air-dried.

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

25 **Method 5**

- Compound A (277 mg; see Preparation A above) was dissolved in methyl *iso*-butyl ketone (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
- 30 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. The slurry was filtered off, washed with methyl *iso*-butyl ketone (0.5 mL) and air dried.

5 Method 6

Compound A (236 mg; see Preparation A above) was dissolved at room

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%.

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

Method 8

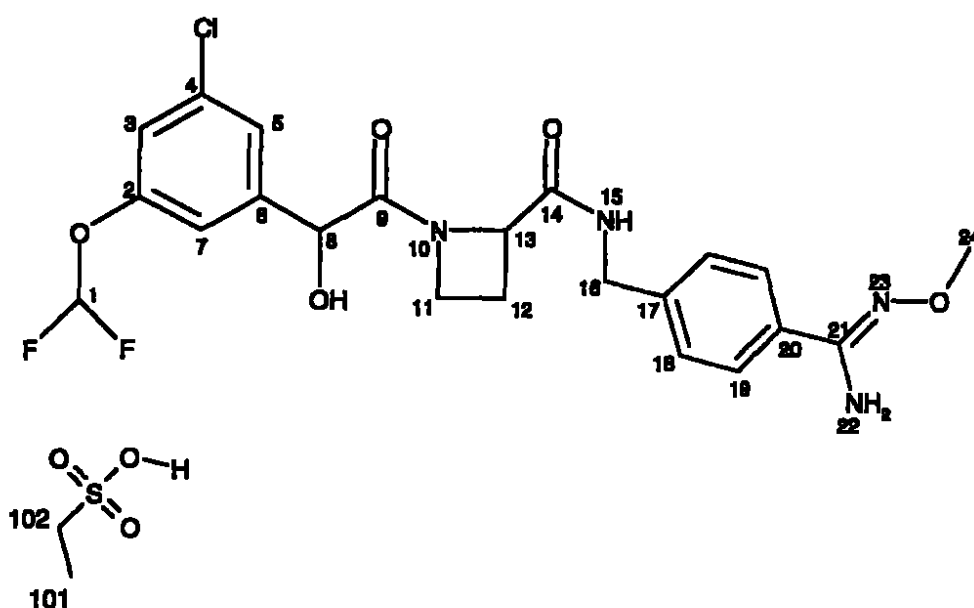
Compound A (163 mg; see Preparation A above) was dissolved in *iso*-propanol (1.2 mL). The solution was heated to 35°C. Ethanesulfonic acid was added (28 µL). Then, ethyl acetate (4.8 mL) was added and the solution was seeded with
10 crystalline Compound A, ethanesulphonic acid salt (see Methods 4 to 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
15 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
20 (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
25 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%.

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 NMR 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 .



3029

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 $^2J_{HF}=73$ Hz and $^1J_{CF}=263$ Hz.

- 5 ^1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment and proton-proton correlations are shown in Table 2.

Table 2.

Atom No.	Type	^{13}C shift/ppm ^a	^1H shift/ppm ^b and multiplicity ^a	J_{HF} /Hz
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)	

11'		49.0	b:4.21 (m) 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) 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)	

3130

101	CH3		1.28 (t)	7.4
102	CH2		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

5 ^dObtained in the gCOSY experiment.

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

HRMS calculated for C₂₄H₂₉ClF₂N₄O₃S (M-H)⁻ 605.1284, found 605.1296.

10

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.

15 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

32
31

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

Method 10 : 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.
10 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 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.

15

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

Method 11 : Crystallisation of Amorphous Material

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

Methods 12 and 13 : Reaction Crystallisations

Method 12

25 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 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
5 total of approximately 140 mg of white solid was obtained.

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,
10 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%.

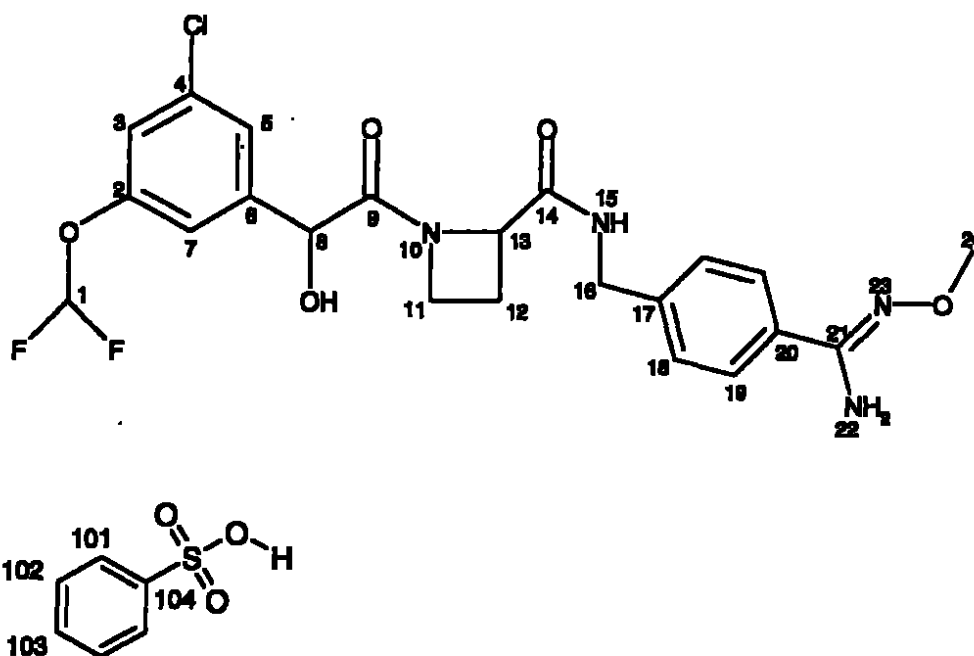
15

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 , ^{13}C and selective NOE) and 2D (gCOSY, gHSQC and gHMBC) NMR experiments were used. All data were in good agreement with the theoretical
20 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 CD_3OD .

25

33 32

55



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 ^e	6.89 (t)	74 ($^2J_{HF}$)
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)	
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)	16.0

34
33

			4.46 (AB-pattern)	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		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 C₂₃H₂₉ClF₂N₄O₅S (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.

5 **Table 5**

d value (Å)	Intensity (%)	Intensity
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

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 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.

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.

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

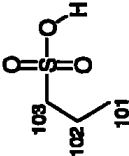
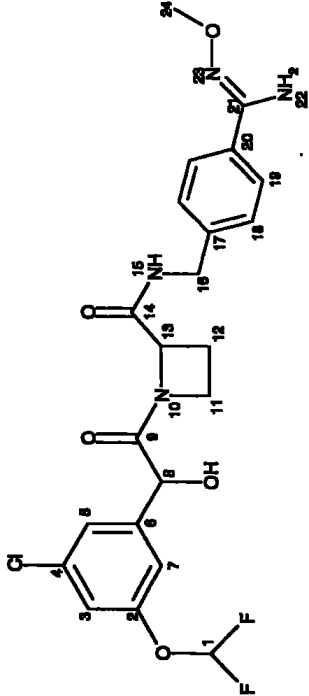
Method 15 : Crystallisation of Amorphous Material

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.

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 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 characterised by NMR as follows:
13 mg of the salt was dissolved in deuterated methanol (0.7 mL) for NMR. A combination of 1D (¹H, ¹³C) and 2D (gCOSY) 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 65:35. H22 could not be observed as these protons were in fast exchange with the solvent CD₃OD.



5 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 $^1J_{HF}=74$ Hz and $^1J_{CF}=260$ Hz.

10 1H and ^{13}C NMR chemical shift assignment and proton-proton correlations are shown in Table 6.

Table 6

Atom No.	Type	^{13}C shift/ ppm ^a	1H shift/ppm ^b and multiplicity ^c	J_{HH} /Hz and J_{HF} /Hz
1	CH	117.5 ^a	6.89 (t)	74 ($^3J_{HF}$)
1'		117.5 ^a	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		
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)	16.0 and 6.6

3X36

16'		43.6	4.45 (AB-pattern) 4.51 4.50	16.0 and 5.3
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 C₂₃H₃₁ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 619.1441, found 619.1436.

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

3837

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

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

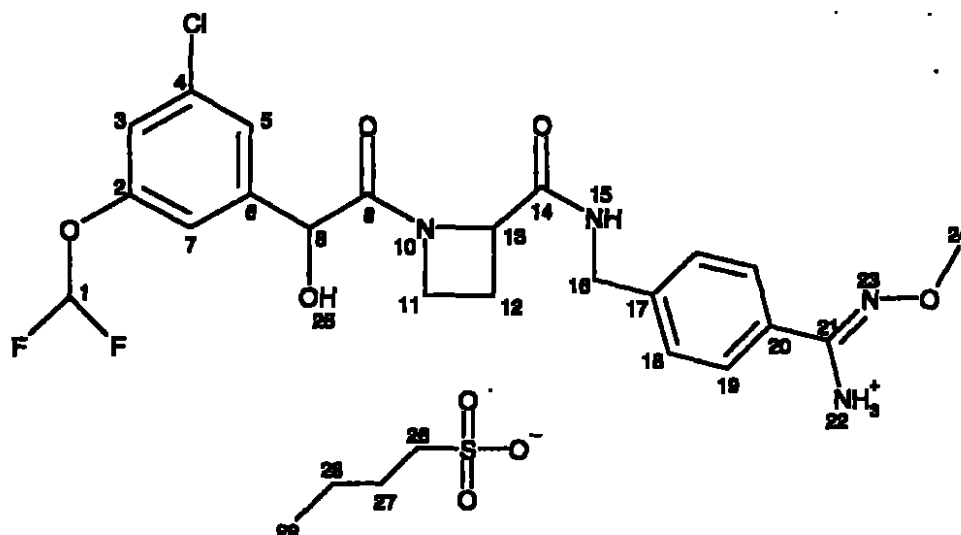
Compound A, butanesulfonic acid salt was charaterised by NMR as follows:

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.

25



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 $^1J_{CF}=$
 5 258 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.

10

Table 8

^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) ^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 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
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
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 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

2-Naphtalenesulfonate

5 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
Be sylate	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

42
41

			531.1 703.1
2-Naphtalenesulfonate	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

- 15 Phosphoric

D-glutamic

L-arginine

L-lysine

L-lysine * HCl

5

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
of 1,5-naphthalene -disulfonic acid tetrahydrate (1.35 gram, 10 % in ethanol) was
20 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
heptane (1.5 mL and 1.0 mL respectively) was added. After about 1 hour the slurry
25 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.

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

30

43
42

Amorphous Compound B (1.009 gr) was dissolved in 20 mL 2-propanol + 20 mL ethyl acetate. 351.7 mg 1,5-naphtalene-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-naphtalenedisulfonic acid salt

430.7 mg of the 1,5-naphtalene-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-naphtalenedisulfonic 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-naphtalenedisulfonic 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.

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-J : 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%.

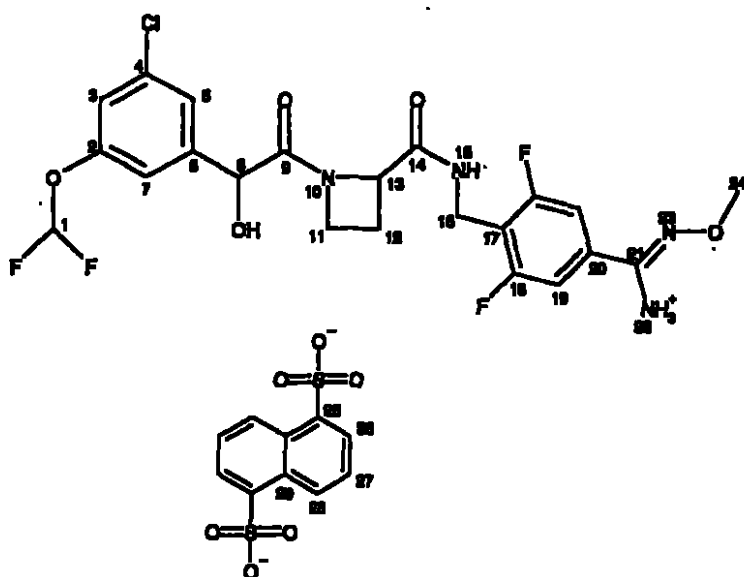
Characterisation

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

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



- There are four fluorine atoms in the molecule. They give rise to split resonances
- 20 for some protons and carbons. 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 $^2J_{HF}=73$ 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 ^a	6.91 (t)	73 ($^2J_{HF}$)	nd
1'	2	117.5 ^a	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) ^b	nd	5, 7
3'		119.6	7.11 (t) ^b	nd	5', 7'
4	C	136.1	na	na	na
4'		135.8	na	na	na

45 44

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 ^d	na	na	na
18	CF	162.8 ^e	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 ^aThe resonance is a triplet due to coupling with the two fluorine nuclei F1. ¹J_{CF}=263 Hz.

^bThe resonance is a triplet due to coupling to the two fluorine nuclei F18. ²J_{CF}=19 Hz.

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

¹J_{CF}=251 Hz and ³J_{CF}=8 Hz.

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

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

^aThe 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.

46
45

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

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)
10	aq.	=	aqueous
	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)
15	d	=	day(s)
	d	=	doublet (in relation to NMR)
	DCC	=	dicyclohexyl carbodiimide
	dd	=	doublet of doublets (in relation to NMR)
	DIBAL-H	=	di-isobutylaluminium hydride
20	DIPEA	=	diisopropylethylamine
	DMAP	=	4-(<i>N,N</i> -dimethyl amino) pyridine
	DMF	=	<i>N,N</i> -dimethylformamide
	DMSO	=	dimethylsulfoxide
	DSC	=	differential scanning calorimetry
25	DVT	=	deep vein thrombosis
	EDC	=	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
	eq.	=	equivalents
	ES	=	electrospray
30	ESI	=	electrospray interface

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

	QF	=	tetrabutylammonium fluoride
	rt/RT	=	room temperature
	s	=	singlet (in relation to NMR)
	solutoI	=	PEG 660 12-hydroxy stearate (a non-ionic surfactant)
5	t	=	triplet (in relation to NMR)
	TBTU	=	[N,N,N',N'-tetramethyl-O-(benzotriazol-1-yl)uronium tetrafluoroborate]
	TEA	=	triethylamine
	Teoc	=	2-(trimethylsilyl)ethoxycarbonyl
10	TEMPO	=	2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical
	TFA	=	trifluoroacetic acid
	TGA	=	thermogravimetric analysis
	THF	=	tetrahydrofuran
	TLC	=	thin layer chromatography
15	UV	=	ultraviolet

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

20 The invention is illustrated by way of the following Examples.

Example 1

Compound A	30 µmol
PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) %	to 1 mL

25

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % followed by gently stirring. This composition was given to dogs orally by gavage once daily for 5 days. The dose 150 µmol/kg gave maximum plasma concentrations in the range 118-254 µM (118-254 µmol/L) after the first dose and 186-286 µM (186-286 µmol/L) after the fifth dose.

30

47

Example 2

Compound A 40 μ mol
PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % to 1 mL

5

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % followed by gently stirring. This composition was given to rats orally by gavage once daily for 5 days. The dose 400 μ mol/kg gave maximum plasma concentrations in the range 3.17-6.91 μ M (3.17-6.91 μ mol/L) after the first dose and 3.01-10.5 μ M (3.01-10.5 μ mol/L) after the fifth dose.

10

Example 3

Compound A 80 μ mol
PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % to 1 mL

15

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % followed by gently stirring. This composition was given to rats orally by gavage once daily for 5 days. The dose 800 μ mol/kg gave maximum plasma concentrations in the range 7.00-23.9 μ M (7.00-23.9 μ mol/L) after the first dose and 10.3-32.8 μ M (10.3-32.8 μ mol/L) after the fifth dose.

20

Example 4

Compound A 250 μ mol
PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % to 1 mL

25

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 1000 times higher in this vehicle compared to water alone.

30

86

Example 5

Compound A 21 μ mol
PEG 400/ethanol/water 20/10/70 (w/w) % to 1 mL

- 5 A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 20/10/70 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 100 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 6

- 10 Compound A 51 μ mol
PEG 400/ethanol/water 20/10/70 (w/w) % to 1 mL
The water contained 50 μ mol/mL Tartaric Acid

- 15 A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG 400/ethanol/water 20/10/70 (w/w) % that was followed by gently stirring. The pH of this solution was 3.6. The solubility of Compound A is at least 250 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 7

- 20 Compound A 44 μ mol
PEG 400/ethanol/water 30/5/65 (w/w) % to 1 mL

- 25 A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 30/5/65 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 200 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 8

- Compound A 88 μ mol
PEG 400/ethanol/water 30/5/65 (w/w) % to 1 mL
30 The water contained 50 μ mol/mL Tartaric Acid

48

87

HCl to pH 3.6

q.s.

A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG 400/ethanol/water 30/5/65 (w/w) % followed by gently stirring. The pH of this solution was set to 3.6 by addition of HCl. The solubility of Compound A is at least 400 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 9

Compound A	120 μ mol
PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 600 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 10

Compound A	198 μ mol
PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) %	to 1 mL
The water contained 50 μ mol/mL Tartaric Acid	
HCl to pH 3.8	q.s.

A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) % followed by gently stirring. The pH of this solution was set to 3.8 by addition of HCl. The solubility of Compound A is at least 1000 times higher in this vehicle compared to water alone. Formulations of Compound A in this vehicle are stable for at least 3 months at $< -15^{\circ}\text{C}$.

Example 11

Compound A	136 μ mol
Hydroxypropyl- β -cyclodextrin/water 40/60 (w/w) %	to 1 mL

HCl to pH 3.7

q.s.

A formulation was prepared by dissolving Compound A in Hydroxypropyl- β -cyclodextrin/water 40/60 (w/w) % followed by gently stirring. The pH of this solution was set to 4.7 by addition of HCl. The solubility of Compound A is at least 700 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 12

Compound A	76 μ mol
Hydroxypropyl- β -cyclodextrin/water 28/72 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in Hydroxypropyl- β -cyclodextrin/water 28/72 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 400 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 13

Compound A	40 μ mol
PEG 400/ethanol/solutol TM /water 50/5/5/40 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/solutolTM/water 50/5/5/40 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 80 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 14

Compound A	40 μ mol
PEG 400/water 40/60 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400 followed by gently stirring for at least 1 hour, thereafter water was added to the final volume. The solubility of Compound A is at least 200 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 15

Compound A 52 μ mol
PEG 400/water 35/65 (w/w) % to 1 mL

- 5 The water contained 50 μ mol/mL Tartaric Acid

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400 followed by gently stirring for at least 1 hour, thereafter water was added to the final volume. The solubility of Compound A is at least 250 times higher in this vehicle compared to water alone.

10

Example 16

Compound A 58 μ mol
PEG 400/water 50/50 (w/w) % to 1 mL

- 15 A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400 followed by gently stirring for at least 1 hour, thereafter water was added to the final volume. The solubility of Compound A is at least 300 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 17

- 20 Compound A 88 μ mol
PEG 400/water 67/33 (w/w) % to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400 followed by gently stirring for at least 1 hour, thereafter water was added to the final volume. The solubility of

- 25 Compound A is at least 400 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 18

Compound A 92 μ mol
PEG 400/ethanol/water 45/1/54 (w/w) % to 1 mL

30

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 45/1/54 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 450 times higher in this vehicle compared to water alone.

5

Example 19

Compound A	159 μ mol
PEG 400/ethanol/water 45/1/54 (w/w) %	to 1 mL
The water contained 50 μ mol/mL Tartaric Acid	
HCl to pH 4.2	q.s.

10

A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG 400/ethanol/water 45/1/54 (w/w) % followed by gently stirring. The pH of this solution was set to 4.2 with HCl. The solubility of Compound A is at least 800 times higher in this vehicle compared to water alone.

15

Example 20

Compound A	101 μ mol
PEG 400/ethanol/water 45/2/53 (w/w) %	to 1 mL

20 A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 45/2/53 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 500 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 21

25 Compound A	167 μ mol
PEG 400/ethanol/water 45/2/53 (w/w) %	to 1 mL
The water contained 50 μ mol/mL Tartaric Acid	
HCl to pH 4.3	q.s.

4 50

A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG 400/ethanol/water 45/2/53 (w/w) % followed by gently stirring. The pH of this solution was set to 4.3 by addition of HCl. The solubility of Compound A is at least 800 times higher in this vehicle compared to water alone.

5

Example 22

Compound A	46 μ mol
DMA/water 50/50 (w/w) %	to 1 mL

- 10 A formulation was prepared by dissolving Compound A in the vehicle followed by gently stirring for at least 1 hour. The solubility of Compound A is at least 230 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 23

- | | |
|-------------------------|--------------|
| 15 Compound A | 29 μ mol |
| DMA/water 25/75 (w/w) % | to 1 mL |

- A formulation was prepared by dissolving Compound A in the vehicle followed by gently stirring for at least 1 hour. The solubility of Compound A is at least 150 times higher in this vehicle compared to water alone.

20

Example 24

- | | |
|--------------------|--------------|
| Compound A | 5 μ mol |
| HCl | 10 μ mol |
| 25 Water | to 1 mL |
| HCl/NaOH to pH 3.6 | q.s. |

A formulation was prepared by dissolving Compound A in a lower volume of the double equimolar amount of HCl followed by gently stirring and dilution to 1mL. The pH of the

final solution was adjusted to 3.6. The solubility of Compound A is at least 20 times higher in this vehicle compared to water alone.

Example 25

5	Compound A	10 μ mol
	Water	to 1 mL
	HCl to pH 1.0	q.s.
	NaOH to pH 3.0	q.s.

- 10 A formulation was prepared by dissolving Compound A water and HCl was added to give pH 1 thereafter the solution was gently stirred. The pH of the final solution was adjusted to 3.0 with NaOH. The solubility of Compound A is at least 40 times higher in this vehicle compared to water alone. This formulation was given p.o to rats in a kinetic comparative study.

15

Example 26

Compound A	100 μ mol
Miglyol	0.25 g/g Compound A
DMA	to 1 mL

20

A formulation was prepared by dissolving Compound A in 1mL DMA/miglyol followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 4000 times higher in this vehicle compared to water alone.

25

Example 27

Compound A	100 μ mol
Miglyol	0.25 g/g Compound A
Ethanol	to 1 mL

51

A formulation was prepared by dissolving Compound A in 1mL Ethanol/Miglyol followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 4000 times higher in this vehicle compared to water alone.

5

Example 28

Compound A	130 μ mol
Ethanol	to 1 mL

10

A formulation was prepared by dissolving Compound A in 1mL ethanol followed by gently stirring. The substance is stable in this formulation more than 1 week.

Example 29

In order to prepare nanoparticles a stock solution of Compound A of about 100 mM in ethanol was used. Included was also 25% (w/w) Miglyol, calculated on the amount of the substance. The solutions were diluted 1/10 with the stabilizer solution, consisting of 0.2% (w/w) PVP and 0.25 mM SDS in water. The mixing, which is considered as a critical parameter during the nanoparticle preparation, was rapid and instant. The drug solution was rapidly injected into the stabilizer solution during ultrasonication. After the 1/10 dilution in the aqueous solution, nanoparticles of about 150 nm were achieved. After 6 hours at room temperature, the particle sizes were unchanged.

20

Example 30

Compound A	4 μ mol
saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) %	to 1 mL

25

A formulation was prepared by dissolving Compound A in saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) % followed by gently stirring. The solution was given orally to rats and the plasma concentration of Compound D was 0.56 μ mol/L after 1 hour. The solution was given subcutaneously to rats and the plasma concentrations of Compound D and A were 0.24 μ mol/L and 0.6 μ mol/L, respectively, after 1 hour.

30

Example 31

Compound B 4 μ mol
saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) % to 1 mL

- 5 A formulation was prepared by dissolving Compound B in saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) % followed by gently stirring. The solution was given orally to rats and the plasma concentrations of Compound B and Compound E were respectively 0.07 μ mol/L and 0.65 μ mol/L, after 1 hour. The solution was given subcutaneously to rats and the plasma concentrations of Compound B and E were 0.4 μ mol/L and 0.3 μ mol/L, respectively, after
10 1 hour.

Example 32

Compound C 4 μ mol
saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) % to 1 mL

15

- A formulation was prepared by dissolving Compound C in saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) % followed by gently stirring. The solution was given orally to rats and the plasma concentrations of Compounds C and F were respectively 0.2 μ mol/L and 0.5 μ mol/L after 1 hour. The solution was given subcutaneously to rats and the plasma concentrations of
20 Compounds C and F were 0.35 μ mol/L and 0.5 μ mol/L, respectively, after 1 hour.

Example 33

Compound D (trifluoroacetate salt) 5 μ mol
Saline 9 mg/ml to 1 mL

25

- A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound D in 1 mL saline followed by gently stirring.

Example 34

- 30 Compound D (trifluoroacetate salt) 75 μ mol

95

EtOH	0.05 mL
Saline(9 mg/ml)	to 1 mL

5 A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound D in 1mL saline/ethanol solution followed by gently stirring.

Example 35

Compound D (trifluoroacetate salt)	4 µmol
EtOH	0.02 mL
10 saline	to 1 mL

15 A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound D in 1mL saline/ethanol solution followed by gently stirring. The solution was given subcutaneously to rats and the plasma concentration of Compound D was 0.55 µmol/L after 1 hour.

Example 36

Compound E (acetate salt)	4 µmol
EtOH	0.02 mL
20 saline	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound E in 1mL saline/ethanol solution followed by gently stirring. The solution was given subcutaneously to rats and the plasma concentration of Compound E was 0.75 µmol/L after 1 hour.

Example 37

Compound F (trifluoroacetate salt)	4 µmol
EtOH	0.02 mL
25 saline	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound F in 1mL saline/ethanol solution followed by gently stirring. The solution was given subcutaneously to rats and the plasma concentration Compound F was 0.92 µmol/L after 1 hour.

5

Example 38

Compound E (acetate salt) 22 mg
Saline 9 mg/ml to 1 mL

10 A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound E in 1mL saline followed by gently stirring.

Example 39

Compound F (trifluoroacetate salt) 22 mg
Saline 9 mg/ml to 1 mL

15

A formulation was prepared by dissolving the salt of Compound F in 1mL saline followed by gently stirring.

Example 40

20 Compound A (as esylate salt) 14 mg
water to 1 mL

A solution was prepared by dissolving excess of Compound A as esylate salt in 3mL water followed by gently stirring over night. A final concentration of the solution after filtration
25 was monitored to 14 mg/ml at a pH of 2.7.

Example 41

Compound A (as esylate salt) 33 mg
Sodium phosphate buffer pH=3.1 I=0.1 to 1 mL

30

H/53

A solution was prepared by dissolving 112 mg of Compound A as esylate salt in 3mL sodium phosphate buffer followed by gently stirring over night. A final concentration of the solution after filtration was monitored to 33 mg/ml at a pH of 2.7.

5

Example 42

Compound A (as esylate salt)	1.6 mg
Sodium phosphate buffer pH=6.9 I=0.1	to 1 mL

10 A solution was prepared by dissolving 20 mg of Compound A as esylate salt in 3mL sodium phosphate buffer followed by gently stirring over night. A final concentration of the solution after filtration was monitored to 1.6 mg/ml at a pH of 6.5.

Example 43

15 The following freeze dried formulations can be made in accordance with techniques described in one or more of Examples 1-29 above:

a.

Compound A	10 μ mol
Mannitol	10 mg
Water	to 1 mL
20 HCl to pH 1.0	q.s.
NaOH to pH 3.0	q.s.

b.

Compound D	10 μ mol
25 Mannitol	10 mg
Water	to 1 mL
HCl to pH 1.0	q.s.
NaOH to pH 3.0	q.s.

30 c.

	Compound E	10 μ mol
	Mannitol	10 mg
	Water	to 1 mL
	HCl to pH 1.0	q.s.
5	NaOH to pH 3.0	q.s.
	d.	
	Compound F	10 μ mol
	Mannitol	10 mg
10	Water	to 1 mL
	HCl to pH 1.0	q.s.
	NaOH to pH 3.0	q.s.
	e.	
15	Compound B	10 μ mol
	Mannitol	10 mg
	Water	to 1 mL
	HCl to pH 1.0	q.s.
	NaOH to pH 3.0	q.s.
20		
	f.	
	Compound C	10 μ mol
	Mannitol	10 mg
	Water	to 1 mL
25	HCl to pH 1.0	q.s.
	NaOH to pH 3.0	q.s.
	g.	
	Compound A (as esylate salt)	14 mg
30	Mannitol	10 mg

54

	Water	to 1 mL
	HCl to pH 1.0	q.s.
	NaOH to pH 3.0	q.s.
5	h.	
	Compound A (as besylate salt)	14 mg
	Mannitol	10 mg
	Water	to 1 mL
	HCl to pH 1.0	q.s.
10	NaOH to pH 3.0	q.s.

The solutions are optionally sterile filtered, for example through a 0.22 µm membrane filter. Solutions (sterile or otherwise) are filled into appropriate vessels (e. g. vials) and the formulations are freeze-dried using standard equipment. Vials may be sealed in freeze-dryer
15 equipment under a nitrogen atmosphere.

Example 44

	Weight	Amount
Compound A	48 mg	17%
Polyvinyl pyrrolidone K90	8 mg	3%
Mannitol	21 mg	7%
Microcrystalline cellulose	187 mg	65%
Sodium starch glycolate	21 mg	7%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

The excipients and drug were mixed and granulated with polyvinyl pyrrolidone K90
20 dissolved in water. The granules were then dried in a drying oven. The granulate was lubricated with sodiumstearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

Three individual tablets were tested for drug release in 900ml media using 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 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. The results are presented in the table below.

[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].

Time (min)	% released in buffer pH 1.1	% released in buffer pH 6.8
0	0	0
15	100	44
30	100	49
45	100	51
60	100	53
120	100	57
180	100	61
240	100	63
360	100	67
480	100	70
600	100	75
720	100	77
840	100	79

1
55

101

960	100	82
1080	100	83
1200	100	86

Example 45

	Weight	Amount
Esylate salt of Compound A	58 mg	20%
Polyvinyl pyrrolidone K90	8 mg	3%
Mannitol	21 mg	7%
Microcrystalline cellulose	177 mg	62%
Sodium starch glycolate	21 mg	7%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

5 The excipients and drug were mixed and granulated with polyvinyl pyrrolidone K90 dissolved in water. The granules were then dried in a drying oven. The granulate was lubricated with sodium stearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress.

Example 46

	Weight	Amount
Compound B	48 mg	17%
Polyvinyl pyrrolidone K90	8 mg	3%
Mannitol	21 mg	7%
Microcrystalline cellulose	187 mg	65%
Sodium starch glycolate	21 mg	7%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

10

The excipients and drug were mixed and granulated with polyvinyl pyrrolidone K90 dissolved in water. The granules were then dried in a drying

oven. The granulate was lubricated with sodium stearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress

Example 47

	Weight	Amount
Compound C	48 mg	17%
Polyvinyl pyrrolidone K90	8 mg	3%
Mannitol	21 mg	7%
Microcrystalline cellulose	187 mg	65%
Sodium starch glycolate	21 mg	7%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

5

The excipients and drug were mixed and granulated with polyvinyl pyrrolidone K90 dissolved in water. The granules were then dried in a drying oven. The granulate was lubricated with sodium stearyl fumarate and compressed into tablets using an excenterpress

10

Example 48

Compound A 16 μ mol
PEG 414 to 1 mL

15 A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG414 followed by gently stirring.

Example 49

Compound A 16 μ mol
20 PEG 300 to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG300 followed by gently stirring.

Example 50

5	Compound A	16 μmol
	PEG 200	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in acidified PEG200 followed by gently stirring.

Example 51

Compound G	...	4 μmol
saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) %		to 1 mL

15 A formulation was prepared by dissolving Compound G in saline/ethanol/solvent
90/5/5 (w/w) % followed by gently stirring.

Example 52

	Compound J	4 μmol
20	saline/ethanol/solutoi 90/5/5 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound J in saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) % followed by gently stirring.

Example 53

Compound H	4μmol
saline/ethanol/solutol 90/5/5 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound H in saline/ethanol/soluto
30 90/5/5 (w/w) % followed by gently stirring.

Example 54

	Weight	Amount
Compound A esylate salt	500 mg	66%
Polyvinyl pyrrolidone K30	100 mg	13%
Microcrystalline cellulose	100 mg	13%
Crosslinked sodium CMC	50 mg	7%
Magnesium stearate	5 mg	1%

Formulation can be prepared in accordance with Example 47 above.

5

Example 55

	Weight	Amount
Compound A <i>n</i> -propane sulphonic acid salt	100 mg	23%
Polyvinyl pyrrolidone K30	60 mg	14%
Lactose monohydrate	100 mg	23%
Microcrystalline cellulose	150 mg	34%
Polyvinyl pyrrolidone crosslinked	20 mg	5%
Sodium stearyl fumarate	10 mg	2%

Formulation can be prepared in accordance with Example 47 above.

10

Example 56

	Weight	Amount
Compound A besylate salt	20 mg	8%
Hydroxypropyl cellulose	15 mg	6%
Microcrystalline cellulose	200 mg	79%

57

	Weight	Amount
Crosslinked sodium CMC	15 mg	6%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

Formulation can be prepared in accordance with Example 47 above.

Example 57

5	Compound A	24 μ mol
	PEG 400/ethanol/water 25/10/65 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 25/10/65 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least
10 100 times higher in this vehicle compared to water alone. The formulation is stable in a freezer for at least 2 months.

Example 58

	Compound A	800 μ mol
15	PEG 400/ethanol/water 50/10/40 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 50/10/40 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least
2000 times higher in this vehicle compared to water alone.

20

Example 59

	Compound A	500 μ mol
	Citric acid	200 μ mol
	HCl to pH 3.6	q.s.
25	PEG 400/ethanol/9 mg/ml NaCl 40/10/50 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 40/10/50 (w/w) % followed by gently stirring. The solubility of Compound A is at least 1500 times higher in this vehicle compared to water alone.

5

Example 60

Compound A	24 µmol
citric acid	5 µmol
HCl to pH 3.2	q.s.
ethanol/water 12/88 (w/w) %	to 1 mL

10

A formulation was prepared by dissolving Compound A in ethanol followed by gently stirring, thereafter citric acid and water was added to final volume and the pH was set to 3.2. The solubility of Compound A is at least 100 times higher in this vehicle compared to water alone. The formulation is stable in a freezer for at least 1 month.

15

Example 61

Compound A	2 µmol
citric acid	5 µmol
HCl to pH 3.6	q.s.
9 mg/ml NaCl	to 1 mL

20

A formulation was prepared by dissolving Compound A and citric acid in physiological saline followed by gently stirring. The pH was set to 3.6. The formulation is stable in a freezer for at least 3 months.

25

Example 62

Compound A (as besylate salt)	140 µmol
citric acid	5 µmol
HCl to pH 3.6	q.s.
PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) %	to 1 mL

30

M 58

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) % containing citric acid followed by gently stirring and setting the pH to 3.6. The formulation is stable in a freezer for at least 1 month.

5

Example 63

Compound A (as besylate salt)	65 µmol
citric acid	5 µmol
HCl to pH 3.3	q.s.
PEG 400/ethanol/water 20/5/75 (w/w) %	to 1 mL

10

A formulation was prepared by dissolving Compound A in PEG 400/ethanol/water 20/5/75 (w/w) % containing citric acid followed by gently stirring and the pH was set to 3.2.

15

Example 64

Compound D (as acetate salt)	25 µmol
PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) %	to 1 mL
Tartaric Acid : Component A (acetate salt of D) equimolar amount plus 5 mM excess	
HCl to pH 3.6	q.s.

20

A formulation was prepared by dissolving Compound D in acidified PEG 400/ethanol/water 40/5/55 (w/w) % followed by gently stirring. The pH of this solution was set to 3.6 by addition of HCl. Formulations of D in this vehicle are stable for at least 2 months at < -15°C.

25

Example 65

Compound A	50 mg
HPMC (15000 Cps)	5 mg
Solutol HS15	20 mg
Water	to 1 mL

30

The HPMC was suspended in hot water and melted Solutol was added during vigorous stirring. This solution was chilled and Compound A was added under vigorous stirring to form a well dispersed suspension.

5

Example 66

Compound A (as besylate salt)	50 mg
HPMC (15000 Cps)	5 mg
Solutol HS15	20 mg
10 Water	to 1 mL

The HPMC was suspended in hot water and melted Solutol was added during vigorous stirring. This solution was chilled and Compound A (besylate) was added under vigorous stirring to form a well dispersed suspension.

15

Example 67

Compound D (as acetate salt)	2 µmol
citric acid	5 µmol
HCl to pH 3.6	q.s.
20 9 mg/ml NaCl	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound A and citric acid in physiological saline and stirring gently. The pH was set to 3.6. The formulation is stable in a freezer for at least 3 months.

25

Example 68

To prepare nanoparticles a stock solution of Compound B of about 100 mM in ethanol was used. Included was also 25% (w/w) Miglyol, calculated on the amount of the substance. The solutions were diluted 1/10 with a stabilizer solution consisting of 0.2% (w/w) PVP and 0.25 mM SDS in water. The critical mixing stage was rapid and instant :-

30

67-59

109

The drug solution was rapidly injected into the stabilizer solution during ultrasonication. After 1/10 dilution in the aqueous solution, nanoparticles of about 110 nm were obtained. After 6 hours at room temperature, the particle sizes were unchanged.

Optionally DMA may be used instead of ethanol, Miglyol may be excluded and the dilution may be larger (1/20). Particles in the size range 100 to 300 nm may be obtained by different combinations.

Example 69

Compound B	200 μ mol
PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound B in PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % followed by gently stirring. Formulations of B (at 0.5 mg/mL) in this vehicle are stable for at least 1 month at < -15°C.

Example 70

Compound B	230 μ mol
PEG 400/ethanol/water 60/5/35 (w/w) %	to 1 mL

A formulation was prepared by dissolving Compound B in PEG 400/ethanol/60/5/35 (w/w) % followed by gently stirring.

Example 71

Compound B	50 mg
HPMC (15000 Cps)	5 mg
Solutol HS15	20 mg
Water	to 1 mL

The HPMC was suspended in hot water and melted solutol was added during vigorous stirring. This solution was chilled and Compound B was added under vigorous stirring to form a well dispersed suspension.

5

Example 72

Compound E (as acetate salt)	39 μ mol
9 mg/ml NaCl	to 1 mL

10 A formulation was prepared by dissolving Compound E in 9 mg/ml NaCl by gently stirring. The pH obtained in this formulation is 8-9.

Example 73

Compound C	400 μ mol
PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) %	to 1 mL

15

A formulation was prepared by dissolving Compound C in PEG 400/ethanol/water 50/5/45 (w/w) % followed by gently stirring. Formulations of C (at 0.5 mg/mL) in this vehicle are stable for at least 1 month at room temperature and below.

20

Example 74

Compound C	16 μ mol
Hydroxypropyl- β -cyclodextrin/water 20/80 (w/w) %	to 1 mL

25 A formulation was prepared by dissolving Compound C in Hydroxypropyl- β -cyclodextrin/water 20/80 (w/w) % followed by gently stirring. Formulations of C in this vehicle are stable for at least 2 weeks at < 8°C.

Example 75

Compound F (as trifluoroacetate salt)	38 μ mol
30 9 mg/ml NaCl	to 1 mL

f1 60

A formulation was prepared by dissolving Compound F in 9 mg/ml NaCl by gently stirring. The pH obtained in this formulation is 3-4. Formulations of F in this vehicle are stable for at least 2 weeks at at room temperature and below.

5

Example 76

A tablet was prepared according to the general method of Example 44.

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	66 mg	17%
Polyvinyl pyrrolidone K90	9 mg	2%
Mannitol	29 mg	7%
Microcrystalline cellulose	256 mg	65%
Sodium starch glycolate	29 mg	7%
Sodium stearyl fumarate	4 mg	1%

10

Release Data

Measured according to the general method of Example 44 but using 500ml of media and 75 rpm.

Time (min)	% released in buffer pH 6.8
0	0
5	90
10	94
15	96

20	96
30	98
45	98
60	100

Example 77

A tablet is prepared according to the general method of Example 44.

5

	Weight	Amount
Besylate salt of Compound A	200 mg	40 %
Polyvinyl pyrrolidone K30	10 mg	2 %
Lactose	200 mg	40 %
Microcrystalline cellulose	70 mg	14 %
Polyvinylpolypyrrolidone CL	15 mg	3 %
Magnesium stearate	5 mg	1 %

Other formulations in which the quantity of the besylate salt of Compound A is in the range 50-300mg may be prepared; the ratio of other components being similar to those in Example 77.

10

Example 78

A tablet is prepared according to the general method of Example 44.

61

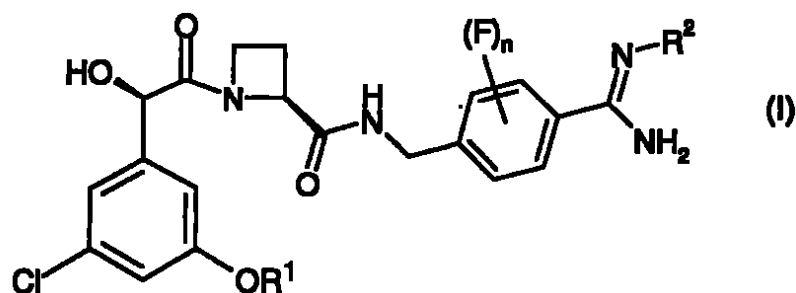
	Weight	Amount
Hemi-Naphthalene 1,5-disulphonic acid salt of Compound B	48 mg	17%
Polyvinyl pyrrolidone K90	8 mg	3%
Mannitol	21 mg	7%
Microcrystalline cellulose	187 mg	65%
Sodium starch glycolate	21 mg	7%
Sodium stearyl fumarate	3 mg	1%

Other formulations in which 100mg or 200mg of the hemi-naphthalene 1,5-disulphonic acid salt of Compound B is used may also be prepared; the ratio of other components being similar to those in Example 78.

5

Particular aspects of the invention are provided as follows :-

1. An immediate release pharmaceutical formulation comprising, as active ingredient, a compound of formula (I):



10

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;

15

or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and a pharmaceutically acceptable diluent or carrier;

provided that the formulation does not solely contain:

- a solution of one active ingredient and water;
- a solution of one active ingredient and dimethylsulphoxide; or,
- a solution of one active ingredient in a mixture of ethanol : PEG 660 12-hydroxy stearate : water 5:5:90.

5

2. An immediate release pharmaceutical formulation as described in aspect 1 wherein the active ingredient is:

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);

10

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

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

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

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

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

15

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab; or,

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

3. A solid immediate release pharmaceutical formulation as described in aspect 1 wherein the active ingredient is:

20

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); or,

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

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

25

4. A solid immediate release pharmaceutical formulation as described in aspect 1 wherein the active ingredient is Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) or a C₁₋₆ alkanesulfonic acid or an optionally substituted arylsulfonic acid salt thereof.

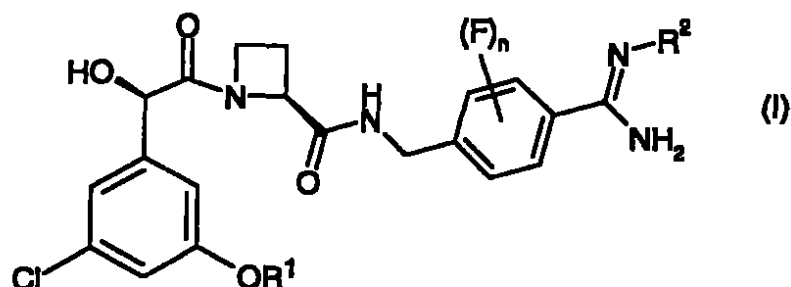
6362

5. An injectable immediate release pharmaceutical formulation as described in aspect 1 wherein the active ingredient is:
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF); or
5 Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab.
6. The use of a formulation as described in aspect 1 as a medicament.
7. The use of a formulation as described in aspect 1 in the manufacture of a
10 medicament for the treatment of a cardiovascular disorder.
8. 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
15 described in aspect 1.
9. A process for making an immediate release formulation as described in aspect 1.
10. The compound Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH).
20

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

CLAIMS

1. An immediate release pharmaceutical formulation comprising, as active ingredient, a compound of formula (I):



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 carrier; provided that when the active ingredient is other than in the form of a salt the formulation does not solely contain:

- a solution of one active ingredient and water;
- a solution of one active ingredient and dimethylsulphoxide; or
- a solution of one active ingredient in a mixture of ethanol : PEG 660 12-hydroxy stearate : water 5:5:90.

2. An immediate release pharmaceutical formulation as claimed in claim 1 comprising an acid addition salt of a compound of formula (I) and a pharmaceutically acceptable diluent or carrier.

3. An immediate release pharmaceutical formulation as claimed in claim 1 or 2 wherein the active ingredient is:

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);

62/63

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

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

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

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

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

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab; or

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

4. A formulation as claimed in claim 1, 2 or 3 wherein the active ingredient is a
10 crystalline salt of:

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); or

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

15 5. A formulation as claimed in any one of claims 1 to 4 wherein the active ingredient is an ethanesulfonic acid, *n*-propanesulfonic acid, benzenesulfonic acid, 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).

20

6. A formulation as claimed in any one of claims 1 to 5 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.

25

7. A formulation as claimed in any one of claims 1 to 5 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,
30 4.02, 3.86, 3.69 and 3.63Å.

8. A formulation as claimed in any one of claims 1 to 7 wherein the composition is a solid immediate release pharmaceutical formulation, an injectable immediate release pharmaceutical formulation or a liquid immediate release oral pharmaceutical formulation.
- 5
9. The use of a formulation as claimed in any one of claims 1 to 8 as a medicament.
10. The use of a formulation as claimed in any one of claims 1 to 8 in the manufacture of a medicament for the treatment of a cardiovascular disorder.
- 10
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 claimed in any one of claims 1 to 8.
- 15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 03/00857

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: A61K 9/00, 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	US 6034104 A (KLIMKOWSKI ET AL), 7 March 2000 (07.03.00) --	1-11
X	WO 0013671 A1 (ASTRA AB), 16 March 2000 (16.03.00) --	1-11
X	WO 0018352 A2 (MERCK & CO INC), 6 April 2000 (06.04.00) --	1-11
X	WO 0214270 A1 (ASTRAZENECA AB), 21 February 2002 (21.02.02) --	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 August 2003

Date of mailing of the international search report

26-08-2003

Name and mailing address of the ISA/

Swedish Patent Office

Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM

Facsimile No. +46 8 666 02 86

Authorized officer

Viveca Norén/EK

Telephone No. +46 8 782 25 00

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 03/00857

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 0042059 A1 (ASTRAZENECA AB), 20 July 2000 (20.07.00) --	1-11
A	WO 9927913 A1 (ASTRA AB), 10 June 1999 (10.06.99) --	1-11
A	WO 9739770 A1 (ASTRA AB), 30 October 1997 (30.10.97) --	1-11
P,A	WO 0244145 A1 (ASTRAZENECA AB), 6 June 2002 (06.06.02) -- -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EE03/00857

6665

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.: 1.1
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/SE03/00857

Claim 11 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 03/00857

67 66

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US	6034104	A	07/03/00	US	5863929 A	26/01/99
				US	6008367 A	28/12/99
				US	6160176 A	12/12/00
				US	6552038 B	22/04/03
				AT	227306 T	15/11/02
				AU	3496297 A	14/01/98
				CA	2258915 A	31/12/97
				DE	69716823 D,T	03/07/03
				DK	816376 T	25/11/02
				EP	0816376 A,B	07/01/98
				SE	0816376 T3	
				EP	1110968 A	27/06/01
				ES	2185876 T	01/05/03
				HK	1007883 A	00/00/00
				JP	2000514788 T	07/11/00
				PT	816376 T	28/02/03
				US	5863329 A	26/01/99
				US	6200967 B	13/03/01
				US	6534650 B	18/03/03
				US	2001018423 A	30/08/01
				WO	9749404 A	31/12/97
WO	0013671	A1	16/03/00	AU	746129 B	18/04/02
				AU	5892499 A	27/03/00
				BR	9913400 A	22/05/01
				CA	2341397 A	16/03/00
				CN	1315855 T	03/10/01
				CZ	20010774 A	17/10/01
				EE	200100134 A	17/06/02
				EP	1109537 A	27/06/01
				HU	0103886 A	29/04/02
				IL	141439 D	00/00/00
				JP	2002524412 T	06/08/02
				NO	20011085 A	03/05/01
				PL	346545 A	11/02/02
				SE	9802973 D	00/00/00
				SK	2812001 A	11/09/01
				TR	200100666 T	00/00/00
				US	6521253 B	18/02/03
				US	2003118644 A	26/06/03
WO	0018352	A2	06/04/00	AU	760735 B	22/05/03
				AU	6161499 A	17/04/00
				CA	2345641 A	06/04/00
				EP	1117398 A	25/07/01
				JP	2002525298 T	13/08/02
				US	6232315 B	15/05/01
				US	6362190 B	26/03/02
				US	2001031757 A	18/10/01

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

26/07/03

International application No.

PCT/SE 03/00857

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO	0214270	A1	21/02/02	AU	8039501 A	25/02/02
				BR	0113212 A	08/07/03
				CA	2415383 A	21/02/02
				EP	1311480 A	21/05/03
				NO	20030675 A	11/02/03
				SE	0002922 D	00/00/00
				US	6433186 B	13/08/02
				US	2002068730 A	06/06/02
				SE	0002921 D	00/00/00
WO	0042059	A1	20/07/00	AU	2336200 A	01/08/00
				BR	0007453 A	30/10/01
				CA	2355792 A	20/07/00
				CN	1343217 T	03/04/02
				CZ	20012529 A	14/11/01
				DE	69906692 D	00/00/00
				EE	200100371 A	15/02/02
				EP	1049438 A,B	08/11/00
				SE	1049438 T3	
				EP	1150996 A	07/11/01
				IL	143987 D	00/00/00
				JP	2002500927 T	15/01/02
				JP	2002535250 T	22/10/02
				NO	20013319 A	12/09/01
				PL	349769 A	09/09/02
				SE	9900071 D	00/00/00
				TR	200102037 T	00/00/00
				US	6582543 B	24/06/03
				SE	9904228 D	00/00/00
WO	9927913	A1	10/06/99	AU	746324 B	18/04/02
				AU	1356499 A	16/06/99
				BR	9814756 A	03/10/00
				CA	2311930 A	10/06/99
				CN	1280493 T	17/01/01
				EP	1032371 A	06/09/00
				HU	0004405 A	28/08/01
				IL	136144 D	00/00/00
				JP	2001524514 T	04/12/01
				NO	20002720 A	28/07/00
				NZ	504354 A	21/12/01
				PL	340926 A	12/03/01
				SE	9704401 D	00/00/00
				SK	6592000 A	18/01/01
				US	6555138 B	29/04/03
				ZA	9810465 A	21/05/99
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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

26/07/03

International application No.
PCT/SE 03/00857

67

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
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

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

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

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 03/101423 A1

- (51) Clasificación Internacional de Patente⁷: A61K 9/00, 31/397, A61P 9/00
- (21) Número de Solicitud Internacional: PCT/SE03/00857
- (22) Fecha de Presentación Internacional:
27 de mayo de 2003 (27.05.2003)
- (25) Idioma de la Presentación: Inglés
- (26) Idioma de Publicación: Inglés
- (30) Datos de la Prioridad:
0201658-2 31 de mayo de 2002 (31.05.2002) SE
- (71) Solicitante (para todos los estados designados excepto USA): AS
TRAZENECA AB [SE/SE]; S-151 85 Södertälje (SE).
- (72) Inventores; e
- (75) Inventores/solicitantes (únicamente para USA):
ABRAHMSÉN
ALAMI, Susanna [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE). INGHARDT, Tord [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE). MAGNUSSON, Anders [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE). SIGFRIDSSON, Carl-Gustaf [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE). THUNE, Mikael [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal (SE).
- (74) Agente: GLOBAL INTELLECTUAL PROPERTY; AstraZeneca AB, S-151 85 Södertälje (SE).
- (81) Estados Designados (nacional): AE, AG, AI., 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, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) Estados Designados (regional): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente EuroAsiática (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).

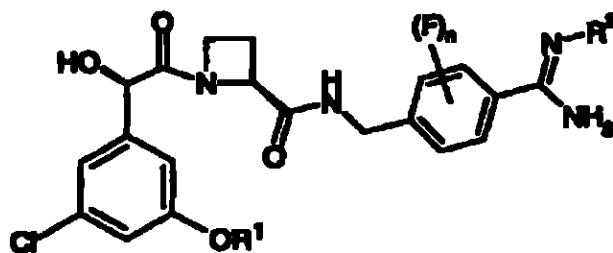
Declaración bajo la Regla 4.17:

— en cuanto al derecho de un solicitante de solicitar y recibir 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, VU, ZA, ZM, ZW, patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente EuroAsiática (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)

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional
- Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, consulte las "Notas de Guía sobre Códigos y Abreviaturas" que aparece al principio de cada ejemplar regular de la Gaceta de PCT

(54) Título: FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN INMEDIATA



(I)

(57) Extracto: De acuerdo con la presente invención, se dispone una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de la fórmula (I), donde R₁ representa C71-2#191 alquilo sustituido por uno o varios radicales de fluoro; R₂ representa hidrógeno, hidroxilo, metoxi o etoxi; y n representa 0, 1 o 2; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; y un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable; siempre que cuando el ingrediente activo está en una forma diferente a una sal, la formulación no contiene solamente *una solución de un ingrediente activo y agua*, *una solución de un ingrediente activo y dimetilsulfoxido; o *una solución de un ingrediente activo y una mezcla de etanol: PEG 660 12-hidroxistearato : agua 5:5:90; la citada formulación siendo útil en el tratamiento de desórdenes cardiovasculares.

FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE LIBERACIÓN INMEDIATA

Esta invención se refiere a una novedosa formulación farmacéutica de liberación inmediata que dispone la administración de un fármaco en particular, la manufactura de la citada formulación y la utilización de dicha formulación en el tratamiento o la prevención de la trombosis.

Con frecuencia es deseable formular unos compuestos farmacéuticamente activos para una liberación inmediata después de una administración oral y / o parenteral con el fin de obtener una concentración suficiente en plasma del fármaco dentro del periodo de tiempo requerido para obtener la respuesta terapéutica deseada.

La liberación inmediata puede ser particularmente deseable en casos donde por ejemplo se requiere una respuesta terapéutica rápida (por ejemplo en el tratamiento de problemas agudos), o en el caso de la administración parenteral, cuando la administración oral al tracto gastrointestinal es incapaz de proveer una absorción sistémica suficiente en el periodo de tiempo requerido.

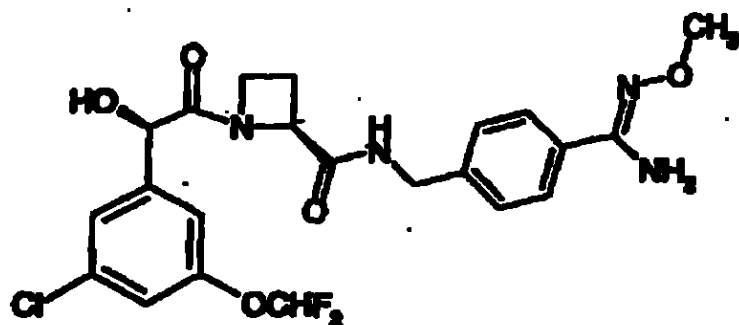
En el caso del tratamiento o de la profilaxis de la trombosis, las formulaciones de liberación inmediata pueden ser necesarias para asegurarse que una cantidad suficiente del fármaco llega al plasma en un periodo de tiempo relativamente corto para permitir una rápida manifestación de la acción. Típicamente también las formulaciones de liberación inmediata son más fáciles de desarrollar que las formulaciones de liberación modificada, y también pueden ofrecer una mayor flexibilidad en relación con la variación de las dosis que se deben administrar a los pacientes. Las formulaciones de liberación inmediata son superiores cuando no se requieren múltiples dosis, y cuando no es necesario conservar la concentración en plasma en un nivel constante durante un periodo de tiempo prolongado.

La Solicitud Internacional de Patente No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, con la primera fecha de prioridad del 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 que se metabolizan en

70

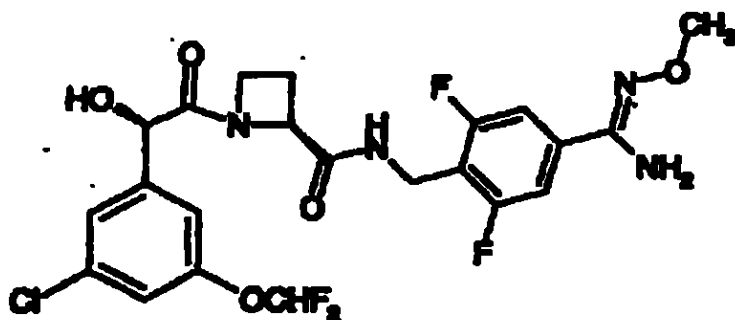
como la trombina. Los tres compuestos siguientes forman parte de aquellos que se divulgan específicamente:

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



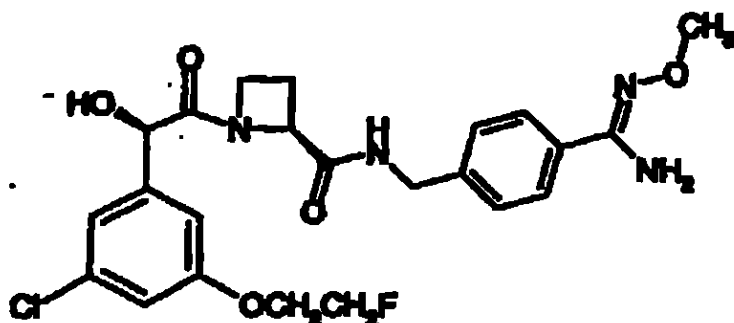
compuesto al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto A;

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



compuesto al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto B, y

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



compuesto al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto C.

Los Compuestos A, B y C de metoxiamidina se metabolizan después

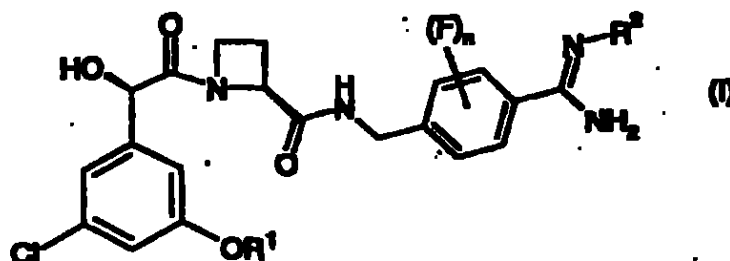
71

de la administración oral y / o parenteral en los respectivos compuestos de la amidina libre, los cuales posteriormente se descubrió que son unos potentes inhibidores de la trombina. Por lo tanto:

- El Compuesto se metaboliza en $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}$ (compuesto al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto D) por medio de un intermedio de profármaco $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OH)}$, compuesto al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto G);
- El 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 al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto E) por medio de un intermedio de profármaco $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)}$ (compuesto al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto H); y,
- El 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 al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto F) por medio de un intermedio de 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 al cual se hace referencia en adelante como el Compuesto J).

Los procesos para la síntesis de los Compuestos A, B, C, D, E, F, G y J se describen en los 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 inmediata de estos compuestos, o sus metabolitos, aún está por describir en la literatura. Hemos encontrado que los compuestos de la fórmula (I) y sus sales se pueden formular como una formulación farmacéutica de liberación inmediata que son fáciles de administrar, por ejemplo mediante la administración oral o parenteral.

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



donde

R^1 representa C_{1-2} alquilo sustituido por uno o varios radicales de fluoro;

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

n representa 0, 1 o 2;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; y un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

siempre que la formulación no contiene únicamente:

- una solución de un ingrediente activo y agua,
- una solución de un ingrediente activo y dimetilsulfoxida; o,
- una solución de un ingrediente activo en una mezcla de etanol: PEG 660 12-hidroxi estearato: agua 5:5:90;

formulaciones a las cuales se hace referencia en adelante como "las formulaciones de la invención".

PEG 660 12-hidroxi estearato es un tensioactivo no iónico, mejor conocido como Solutol K TM.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se dispone el Compuesto H, $Ph(3-Cl)(5-OCHF_2)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)$ el cual se puede preparar por medio de métodos similares a los descritos a continuación para la preparación de los Compuestos G y J.

Los compuestos de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden ser en forma de un solvato, de un hidrato de una combinación de solvato / hidrato, o preferiblemente un no solvato como un anhidrato. Los solvatos pueden ser de uno o varios solventes orgánicos como alquil alcoholes inferiores (por ejemplo C_{1-4}); (por ejemplo metanol, etanol o *iso*-propanol), cetonas (como acetona), ésteres (como acetato de etilo) o combinaciones de los mismos.

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

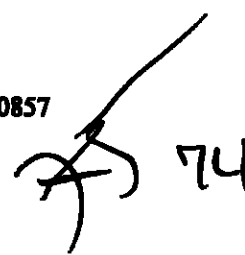
La variable n es preferiblemente 0 o 2.

23

Los compuestos más preferidos de la fórmula (I) incluyen aquellos en los cuales n representa 0, o aquellos en los cuales n representa 2, suministrando así dos átomos de flúoro ubicados en las posiciones 2- y 6- (es decir las dos posiciones *orto* en relación con el punto de adhesión del anillo de benceno en el grupo $-NH-CH_2-$).

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

Las sales preferidas de los compuestos de la fórmula (I) son sales de adición de ácido. Las sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido inorgánico, como las de ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y ácidos hidrohálcos como ácido hidrobromico y clorhídrico. Las sales de adición de ácido más preferidas incluyen aquellas de ácidos orgánicos, como las de ácido dimetilfosfórico, ácido sacarino, ácido ciclohexilsulfámico; aquellas de ácidos carboxílicos (como ácido maleico, ácido fumárico, ácido aspártico, ácido succínico, ácido malónico, ácido acético, ácido benzoico, ácido tereftálico, ácido hipúrico, 1-hidroxi-2-ácido naftoico, ácido pamoico, ácido hidroxibenzoico y similares); aquellas de hidroxí ácidos (como ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico (incluyendo L-(-)-ácido málico y D,L-ácido málico), ácido glucónico, (incluyendo D-ácido glucónico), ácido glicólico, ácido ascórbico, ácido láctico y similares); aquellas de amino ácidos (como ácido glutámico (incluyendo D-glutámico, L-glutámico, y D,L-glutámico, ácidos), arginina (incluyendo L-arginina), lisina (incluyendo L-lisina y L-clorhidrato de lisina), glicina y similares); y, particularmente, aquellas de ácidos sulfónicos, (como 1,2-ácido etanodisulfónico, ácidos alcanforsulfónicos (incluyendo 1S-(+)-10-ácido alcanforsulfónico y (+/-) ácidos alcanforsulfónicos), ácido etanosulfónico, un ácido propanosulfónico (incluyendo *n*-ácido propanosulfónico), un ácido butanosulfónico, un ácido pentanosulfónico, un ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, *p*- ácido xilenosulfónico, 2-ácido mesitilenosulfónico, ácidos naftalenosulfónicos (incluyendo 1,5- ácido naftalenosulfónico y ácido naftalenosulfónico), ácido bencenosulfónico, ácidos hidroxibencenosulfónicos, 2- ácido hidroxietanosulfónico, 3- ácido



hidroxietanosulfónico y similares).

Las sales particularmente incluyen aquellas de C_{1-6} (por ejemplo C_{1-4}) ácidos alquenosulfónicos, como ácido etanosulfónico (esilato) y ácido propanosulfónico (por ejemplo *n*- ácido propanosulfónico) y opcionalmente sustituidas (por ejemplo con uno o varios grupos alquilo C_{1-2}) ácidos arilosulfónicos, como ácido bencenosulfónico (besilato) y ácido naftalenodisulfónico.

Unas relaciones estequiométricas apropiadas de ácido a una base libre están en el rango de 0.25:1.5 de 3.0:1, como de 0.45:1.25 a 1.25:1, incluyendo de 0.50:1 a 1:1.

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

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

De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se dispone un compuesto de la invención en forma parcialmente cristalina. Con "parcialmente cristalina" incluimos 5% o entre 5% y 20% cristalina.

Una persona con destreza en el arte puede determinar el grado (%) de cristalinidad empleando una difracción de rayos X en polvo (XRPD). También se pueden emplear otras técnicas como una NMR de estado sólido, una espectroscopia Raman FT-IR, una calorimetría diferencial de barrido (DSC) y una microcalorimetría.

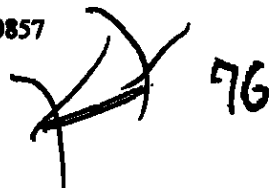
Los compuestos preferidos de la fórmula (I) que se pueden preparar en forma cristalina incluyen sales de C_{1-6} (por ejemplo C_{2-6} , como C_{2-4}) ácidos alcanosulfónicos, como ácido etanosulfónico, ácido propanosulfónico (por ejemplo *n*- ácido propanosulfónico) y ácidos arilosulfónicos opcionalmente sustituidos, como ácido bencenosulfónico y ácido naftalenodisulfónico.

4675

El término formulación farmacéutica de "liberación inmediata" incluye cualquier formulación en la cual la proporción de liberación del fármaco de la formulación y / o la absorción del fármaco no se retarda ni en forma apreciable ni en forma intencional, por manipulación galénica. En el presente caso, la liberación inmediata se puede disponer en forma de un diluyente o excipiente apropiado farmacéuticamente aceptable, este diluyente o excipiente no prolonga, en forma apreciable, la proporción de la liberación del fármaco y / o la absorción. Así, el término excluye formulaciones adaptadas para proveer una liberación "modificada", "controlada", "sostenida", "prolongada", "extendida" o "retardada" del fármaco.

En este contexto, el término "liberación" incluye el suministro (o la administración) de un fármaco de la formulación al tracto gastrointestinal, a los tejidos del cuerpo y / o a la circulación sistémica. En cuanto a la liberación en el tracto gastrointestinal, la liberación se realiza bajo unas condiciones de pH como $\text{pH} = 1$ a 3, especialmente en o alrededor de $\text{pH} = 1$. En un aspecto de la invención, una formulación como se describe en la presente con un compuesto de la fórmula (I), o una sal de adición de ácido del mismo, en forma cristalina libera el fármaco cuando el pH se encuentra dentro de un rango de condiciones. En otro aspecto de la invención, una formulación como se describe en la presente con un compuesto de la fórmula (I), o una sal de adición de ácido del mismo, libera el fármaco bajo unas condiciones de pH como $\text{pH} = 1$ a 3, especialmente en o alrededor de $\text{pH} = 1$. Así, las formulaciones de la invención pueden liberar por lo menos 70% (preferiblemente 80%) del ingrediente activo en 4 horas, como en 3 horas, preferiblemente en 2 horas, más preferiblemente en 1.5 horas, y especialmente en una hora (como en 30 minutos), después de la administración, bien sea oral o parenteral.

Las formulaciones de la invención se pueden formular de conformidad con una variedad de técnicas conocidas, por ejemplo como se describe por M. E. Aulton en "*Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*" (1988) (Churchill Livingstone), cuyas divulgaciones relevantes en

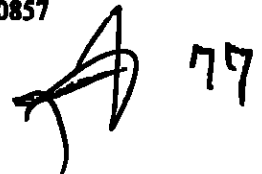


el citado documento se incorporan a la presente por referencia.

Las formulaciones de la invención pueden ser o se pueden adaptar de conformidad con unas técnicas estándar para que sean apropiadas para una administración oral, por ejemplo en forma de una tableta de liberación inmediata, de una cápsula de liberación inmediata, o como una forma de dosis líquida, que comprende el ingrediente activo. Estos tipos de formulación son muy conocidos para una persona con destreza en el arte, y se pueden preparar de conformidad con unas técnicas conocidas en el arte.

Unos diluyentes / excipientes apropiados (que también se pueden denominar "sustancias de llenado") para el uso en formulaciones orales de la invención, por ejemplo aquellas en forma de tableta de liberación inmediata, incluyen fosfato de calcio monobásico, fosfato de calcio dibásico (incluyendo dihidrato de fosfato de calcio dibásico y anhidrato de fosfato de calcio dibásico), fosfato de calcio tribásico, lactosa, celulosa microcristalina, celulosa microcristalina silicificada, manitol, sorbitol, almidón (como maíz, papa o arroz), glucosa, lactato de calcio, carbonato de calcio y similares. Unos diluyentes / excipientes preferidos incluyen fosfato de calcio dibásico y celulosa microcristalina, que se pueden utilizar solos o en combinación con otro diluyente / excipiente como manitol.

Una formulación de la invención en forma de una tableta de liberación inmediata puede comprender uno o varios excipientes para mejorar las propiedades físicas y / o químicas de la composición final, y / o para facilitar el proceso de manufactura. Dichos excipientes son convencionales en la formulación de las formulaciones de liberación inmediata para la administración oral de un fármaco, e incluyen uno o varios de los siguientes: uno o varios lubricantes (como estearato de magnesio, ácido esteárico, estearato de calcio, alcohol estearilo o, preferiblemente, fumarato estearilo sódico); un deslizante (como talco o una sílice coloidal); uno o varios aglutinantes (como polivinilpirrolidona, celulosa microcristalina, un polietilen glicol (PEG), un polietilen óxido, una hidroxipropilmetilcelulosa (HFMC) de peso molecular bajo, una metilcelulosa (MC) de peso molecular bajo, una hidroxipropilcelulosa



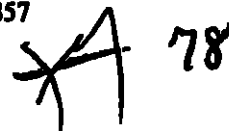
(HPC) de peso molecular bajo, una hidroxietilcelulosa (HEC) de peso molecular bajo, un almidón (como maíz, papa o arroz) o una celulosa sódica de carboximetil de peso molecular bajo; (los aglutinantes preferidos son polivinilpirrolidona o una HPMC de peso molecular bajo); uno o varios agentes de control del pH (como un ácido orgánico (por ejemplo ácido cítrico) o un metal alcalino (por ejemplo sodio) una sal de los mismos, un óxido de magnesio, un alcalino o un metal alcalinotérreo (por ejemplo sulfato de sodio, calcio o potasio), metabisulfato, propionato o sorbato); uno o varios desintegrantes (por ejemplo glicolato de almidón sódico, una polivinilpirrolidona enlazada en cruz, una celulosa carboximetil sódica enlazada en cruz, un almidón (como maíz, papa o arroz) o un alginato); un colorante, un saborizante, un agente modificador de la tonicidad, un agente de recubrimiento o un conservante.

Se apreciará que algunos de los excipientes citados arriba, que pueden estar presentes en una formulación oral de liberación inmediata de la invención (por ejemplo una tableta), pueden cumplir varias funciones entre las establecidas arriba.

En otro aspecto de la invención, una formulación líquida de la invención se adapta de manera que sea la apropiada para una administración oral.

Unas formulaciones líquidas apropiadas que se deberán administrar en forma oral incluyen aquellas en las cuales un compuesto de la fórmula (I) especialmente el Compuesto A, el Compuesto B o el Compuesto C, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra conjuntamente con un excipiente acuoso como el agua. Sin embargo, se tomará nota que ciertas formulaciones específicas no se reivindican (consultar los aspectos particulares y las reivindicaciones).

Una formulación de la presente invención que comprende un excipiente acuoso puede comprender adicionalmente uno o varios excipientes, como un conservante antimicrobiano; un modificador de tonicidad (por ejemplo cloruro de sodio, manitol o glucosa); un agente para ajustar el pH (por ejemplo un ácido o una base inorgánicos, incluyendo



ácido clorhídrico o hidróxido de sodio); un agente que controla el pH (es decir una solución amortiguadora; por ejemplo ácido tartárico, ácido acético o ácido cítrico); un tensioactivo (por ejemplo sodio dodecil sulfato (SDS) o Solutol™); un solubilizante que sirve para ayudar a solubilizar el ingrediente activo (por ejemplo etanol, un polietilen glicol o hidroxipropil-β-ciclodextrina o cloruro de polivinilo (PVP)); o un antioxidante.

Las formulaciones líquidas orales pueden ser en la forma de suspensiones del ingrediente activo, en asocio con un solvente acuoso o, más preferiblemente unas soluciones acuosas (es decir, las soluciones del compuesto activo incluyendo agua como un solvente). En este contexto, el término "solución acuosa" incluye formulaciones en las cuales por lo menos 99% del ingrediente activo está en solución por encima de los 5°C y una presión atmosférica, y el término "suspensión" significa que más del 1% del ingrediente activo no se encuentra en solución bajo estas condiciones. Unos agentes de dispersión típicos son hidroxipropil metilcelulosa, AOT (dioctilsulfosuccinato), PVP y SDS. Otras alternativas pueden ser posibles.

En otro aspecto, la presente invención dispone una formulación oral líquida que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, agua y por lo menos un agente adicional. Los agentes adicionales incluyen:

- i. polietilen glicol (PEG) y opcionalmente también etanol y / o ácido tartárico y / o ácido cítrico y / o ácido clorhídrico; o
- ii. cloruro de sodio (que se disolverá en la formulación), y opcionalmente también etanol; o
- iii. ácido clorhídrico y / o hidróxido de sodio para llevar el pH a un valor apropiado (preferiblemente en el rango de 3-8 para un compuesto de la fórmula (I) donde R² es metoxi o etoxi, como el Compuesto A, B o C); o
- iv. DMA (dimetil acetamida) y opcionalmente también un triglicérido de cadena media (como migliol); o
- v. una β-ciclodextrina (como hidroxipropil-β-ciclodextrina);
- vi. un modificador de la tonicidad como cloruro de sodio y / o manitol.

79

En otro aspecto, la presente invención dispone una solución oral que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, (preferiblemente el Compuesto A, B o C) agua y por lo menos un agente adicional como se describe en (i) a (vi) arriba.

En otro aspecto, la invención dispone una formulación acuosa de un compuesto de la fórmula (I) (como el Compuesto A, B o C) que comprende un agente de solubilización como un polietilen glicol, β -ciclodextrina (como hidroxipropil- β -ciclodextrina), sorbitol o etanol.

En otro aspecto, la presente invención dispone una formulación en solución oral que comprende un compuesto de la fórmula (I) y etanol. Esta formulación puede comprender además un triglicérido de cadena media (como migliol).

En aún otro aspecto, la presente invención dispone una formulación en solución oral que comprende un compuesto de la fórmula (I) y DMA. Esta formulación puede comprender además un triglicérido de cadena media (como migliol).

En otro aspecto, el compuesto de la fórmula (I) es cristalino (especialmente una sal del Compuesto A; preferiblemente una sal de ácido alcanosulfónico C_{1-6} (por ejemplo C_{2-6} , como C_{2-4}), como ácido etanosulfónico, ácido propanosulfónico (por ejemplo *n*- ácido propanosulfónico) o una sal de ácido arilosulfónico sustituido, como una sal de ácido bencenosulfónico o de ácido naftalenodisulfónico).

Se dispone una formulación farmacéutica líquida oral y de liberación inmediata en particular como se reivindica en la reivindicación 1, donde el ingrediente activo es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se dispone otra formulación farmacéutica líquida oral y de liberación inmediata en particular como se reivindica en la reivindicación 1, donde el ingrediente activo es:

80

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) o un C₁₋₆ ácido alcanosulfónico o una sal de ácido arilosulfónico opcionalmente substituido del mismo.

Se dispone aún otra formulación farmacéutica líquida oral y de liberación inmediata en particular como se reivindica en la reivindicación 1, donde el ingrediente activo es:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe) o una sal de ácido arilosulfónico opcionalmente substituido del mismo (como la sal de naftaleno-1,5- ácido disulfónico).

Sin embargo, se tomará nota que ciertas formulaciones específicas no se reivindican (consultar los aspectos particulares y las reivindicaciones).

En otro aspecto de la invención, se adapta una formulación de la invención para que se pueda administrar por vía parenteral, el término "parenteral" incluye cualquier modo de administración que no comprenda la administración oral previa al tracto gastrointestinal incluyendo la administración subcutánea, intravenosa, intraarterial, transdérmica, intranasal, intrabucal, intracutánea, intramuscular, intralipomatosa, intraperitoneal, rectal, sublingual, tópica, por inhalación o por cualquier otra ruta parenteral.

Unas formulaciones apropiadas de la invención que se deberán administrar en forma parenteral incluyen aquellas en las cuales un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra junto con un excipiente acuoso, como el agua.

Una formulación de la presente invención que comprende un excipiente acuoso puede comprender además uno o varios excipientes, como un conservante antimicrobiano; un modificador de tonicidad (por ejemplo cloruro de sodio, manitol o glucosa); un agente de ajuste de pH (por ejemplo un ácido o una base inorgánicos, incluyendo ácido clorhídrico o hidróxido de sodio); unos agentes de control de pH (es decir una solución amortiguadora; por ejemplo ácido tartárico, ácido acético o ácido cítrico); un tensioactivo (por ejemplo sodio dodecil sulfato (SDS) o Solutol™); un solubilizante que sirve para ayudar a solubilizar el ingrediente activo (por

ejemplo etanol, un polietilen glicol o hidroxipropil- β -ciclodextrina o polivinil cloruro (PVP)); o un antioxidante.

Las formulaciones parenterales pueden ser en forma de suspensiones del ingrediente activo en asocio con un solvente acuoso o, más preferiblemente soluciones acuosas (es decir, soluciones del compuesto activo incluyendo agua como un solvente). En este contexto, el término "solución acuosa" incluye formulaciones en las cuales por lo menos el 99% del ingrediente activo está en forma de una solución a más de 5°C y presión atmosférica, y el término "suspensión" significa que más del 1% del ingrediente activo no está en forma de solución bajo dichas condiciones. Unos agentes de dispersión típicos para las suspensiones son hidroxipropil metilcelulosa, AOT, PVP y SDS, pero otras alternativas son posibles.

El número de excipientes empleado en las formulaciones orales y parenterales de la invención depende de muchos factores, como la naturaleza y la cantidad de ingrediente activo presente y la cantidad de diluyente / excipiente (solvente acuoso u otro) que se incluye.

En otro aspecto, la presente invención dispone una formulación parenteral que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, agua y por lo menos un agente adicional. Los agentes adicionales incluyen:

- i. polietilen glicol (PEG) y opcionalmente también etanol y / o ácido tartárico y / o ácido clorhídrico; o
- ii. cloruro de sodio (que se disolverá en la formulación), y opcionalmente también etanol o
- iii. ácido clorhídrico y / o hidróxido de sodio para llevar el pH a un valor apropiado (preferiblemente en el rango de 3-8 para un compuesto de la fórmula (I) donde R^2 es hidrógeno, como el Compuesto D, E o F; o preferiblemente en el rango de 3.5-8 para un compuesto de la fórmula (I) donde R^2 es metoxi o etoxi, como el Compuesto A, B o C); o
- iv. DMA (dimetil acetamida) y opcionalmente también un triglicérido de cadena media (como migliol); o
- v. a β -ciclodextrina (como hidroxipropil- β -ciclodextrina);



vi. un modificador de tonicidad como cloruro de sodio y / o manitol.

En otro aspecto, la presente invención dispone una solución inyectable que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, (preferiblemente el Compuesto D, E o F) agua y por lo menos un agente adicional como se describe en (i) a (vi) arriba.

En otro aspecto, la invención dispone una formulación acuosa de un compuesto de la fórmula (I) (como Compuesto D, E o F) que comprende un agente de solubilización como un polietilen glicol, β -ciclodextrina (como hidroxipropil- β -ciclodextrina), sorbitol o etanol.

En otro aspecto, la presente invención dispone una formulación parenteral que comprende un compuesto de la fórmula (I) y etanol. Esta formulación puede comprender además un triglicérido de cadena media (como migliol).

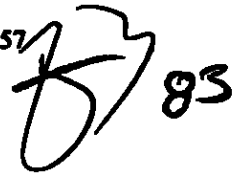
En aún otro aspecto, la presente invención dispone una formulación parenteral que comprende un compuesto de la fórmula (I) y DMA. Esta formulación puede comprender además un triglicérido de cadena media (como migliol).

En otro aspecto, el compuesto de la fórmula (I) es cristalino (especialmente una sal del Compuesto A; preferiblemente una sal de ácido alcanosulfónico C_{1-6} (por ejemplo C_{2-6} como C_{2-4}), como ácido etanosulfónico, ácido propanosulfónico (por ejemplo *n*- ácido propanosulfónico) o una sal de ácido arilosulfónico opcionalmente sustituido, como una sal de ácido bencenosulfónico).

En aún otro aspecto, la formulación de la presente invención es en forma de dosis sólida donde R^2 es hidroxilo, metoxi o etoxi (preferiblemente metoxi) (el compuesto de la fórmula (I) es especialmente el Compuesto A, el Compuesto B o el Compuesto C).

En aún otro aspecto, la presente invención dispone una formulación parenteral (especialmente una solución inyectable a base de agua) que comprende un compuesto de la fórmula (I) en forma de base libre.

En otro aspecto, la presente invención dispone una formulación



parenteral que comprende un compuesto de la fórmula (I) en forma de base libre donde R^2 es hidrógeno.

En aún otro aspecto, la presente invención dispone una formulación sólida que comprende celulosa microcristalina y polivinil pirrolidona (PVP); o que comprende celulosa microcristalina y glicolato de almidón sódico.

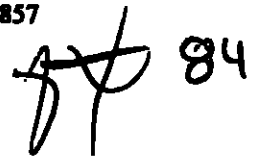
Las formulaciones de la invención, como las formulaciones parenterales que comprenden sales se pueden preparar por medio de la adición de un diluyente / excipiente a la sal apropiada previamente preparada.

Las composiciones que incluyen un ingrediente activo también se pueden disponer en una forma sólida apropiada para el uso en la preparación de una formulación de la invención (por ejemplo una solución, como una solución acuosa, por ejemplo para una administración parenteral) *ex tempore*. Dichas composiciones pueden ser en forma de un sólido que comprende un ingrediente activo, opcionalmente en presencia de uno o varios excipientes como se definieron más arriba, y opcionalmente, hasta el 10% (peso/peso) de diluyente y / o excipiente como se definieron más arriba, composiciones a las cuales se hace referencia en adelante como las "composiciones sólidas de la invención".

Las composiciones sólidas de la invención se pueden elaborar mediante la extracción del diluyente / excipiente (por ejemplo el solvente) de una formulación de la invención, o una formulación concentrada de la invención, la cual puede por ejemplo ser en la forma de una solución, como una solución acuosa.

En otro aspecto, la presente invención dispone una formulación de liberación inmediata que se administra en forma oral, que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal de la misma, un excipiente (como celulosa microcristalina), un desintegrante (como glicolato de almidón sódico), un aglutinante (como polivinil pirrolidona) y un lubricante (como fumarato estearilo sódico). Dicha formulación puede comprender también un excipiente adicional (o una sustancia de llenado) como manitol.

Las formulaciones de la invención que son en forma de tableta de



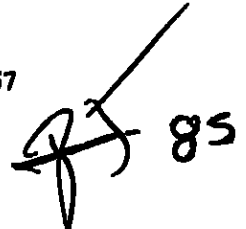
liberación inmediata se pueden preparar llevando un ingrediente activo y uniéndolo a un diluyente / excipiente utilizando unas técnicas estándar y unos equipos estándar, conocidos por una persona con destrezas en el arte, incluyendo una granulación seca o húmeda, una compresión / compactación directa, secado, molido, mezclado, preparación de las tabletas y el recubrimiento; al igual que combinaciones de estos procesos, por ejemplo como se describe en adelante. En un aspecto de la invención, las sales de adición de ácido de los compuestos de la fórmula (I) en forma cristalina se formulan en tabletas.

Por lo tanto se dispone un proceso para la formación de una composición sólida apropiada para el uso en la preparación de una formulación de la invención (por ejemplo una solución, como una solución acuosa) *ex tempore*, proceso que comprende la extracción de diluyente / excipiente (por ejemplo el solvente) de una formulación de la invención, o una formulación concentrada de la invención.

El solvente se puede extraer por medio de una variedad de técnicas conocidas por aquellos con destreza en el arte, por ejemplo por evaporación (bajo presión reducida u otro), secado por congelamiento o cualquier otro proceso de extracción (secado) de solvente que extrae el solvente (como el agua) preservando la integridad del ingrediente activo. Un ejemplo de secado es el secado por congelamiento.

Así, de acuerdo con otro aspecto de la invención, una composición sólida secada por congelamiento (liofilizada) de la invención.

En la preparación de las composiciones sólidas de la invención, una persona con destrezas notará que se pueden agregar unos excipientes adicionales apropiados en una etapa posterior y adecuada de diluyente / excipiente. Por ejemplo, en el caso de las soluciones acuosas, el pH se puede controlar y / o ajustar como se describió más arriba. Adicionalmente, se puede agregar un excipiente adicional apropiado con la finalidad de ayudar en la formación de una composición sólida de la invención durante el proceso de extracción del diluyente / excipiente (por ejemplo manitol, sacarosa, glucosa, manosa o trehalosa).



Una composición sólida de un compuesto de la fórmula (I) o una sal del mismo, incluye por lo tanto una composición en la cual el contenido del solvente (por ejemplo el agua), diferente de un solvente de cristalización, es no más de 10%, como menos de 2% de solvente sin aglutinar, como el agua.

Las formulaciones de la invención se pueden esterilizar, por ejemplo mediante una filtración estéril o una autoclave, y / o se pueden verter en empaques primarios, como frascos, cartuchos y jeringas previamente llenadas. Dichos pasos de procesamiento también se pueden efectuar antes del secado para formar una composición sólida de la invención.

Antes de la administración, la composición sólida seca también se puede reconstituir y / o diluir por ejemplo en agua, en solución salina, solución glucosa o en cualquier otra solución apropiada.

La cantidad de diluyente / excipiente en una formulación oral (por ejemplo una tableta de liberación inmediata) de la invención depende de muchos factores, como la naturaleza y la cantidad del ingrediente activo empleado, y de la naturaleza y las cantidades de cualquier otro constituyente (por ejemplo otros excipientes) que se encuentran presentes en la formulación, pero típicamente va hasta el 40% (peso/peso), preferiblemente hasta el 30%, más preferiblemente hasta el 20%, y particularmente hasta el 10% (peso/peso) de la composición final. La cantidad de excipientes adicionales en la citada formulación oral de la invención también depende de factores como la naturaleza y la cantidad del ingrediente activo que se empleó, al igual que de la naturaleza y la cantidad de cualquier otro constituyente (por ejemplo diluyentes / excipientes y / u otros excipientes) que se encuentran presentes en la formulación, pero para los lubricantes y deslizantes es típicamente hasta el 5% (peso/peso), y para los aglutinantes y desintegrantes es típicamente hasta el 10% (peso/peso) de la composición final.

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



farmacológicamente activos.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se dispone así una formulación de la invención para el uso como un producto farmacéutico.

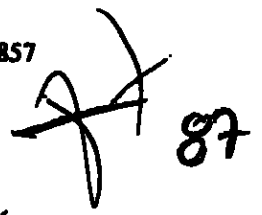
En particular, los compuestos de la fórmula (I) son, o se metabolizan después de la administración para formar unos potentes inhibidores de la trombina, por ejemplo como se podrá demostrar en los ensayos descritos en solicitud internacional de patente, entre otros, No. PCT/SE01/02657, al igual que en las solicitudes internacionales de patente WO 02/14270, WO 01/87879 y WO 00/42059, las divulgaciones relevantes en los citados documentos se incorporan a la presente por referencia.

Con "profármaco de un inhibidor de trombina", incluimos los compuestos que se metabolizan después de la administración y forman un inhibidor de trombina, en una cantidad que se puede detectar en un experimento, después de la administración.

Con "ingrediente activo" y "sustancia activa" queremos decir el agente farmacéutico (protección por inhibidor de trombina y profármacos del mismo) presente en la formulación.

Por lo tanto, se espera que las formulaciones de la invención sean útiles en aquellas condiciones en que se requiera una inhibición de trombina, y / o las condiciones en las cuales se indica una terapia anticoagulante, incluyendo lo siguiente:

El tratamiento y / o la profilaxis de la trombosis y la hipercoagulabilidad en la sangre y / o los tejidos de animales incluyendo el hombre. Se sabe que la hipercoagulabilidad puede conducir a patologías trombo-embólicas. Las condiciones asociadas a la hipercoagulabilidad y a las patologías tromboembólicas que se pueden mencionar incluyen una resistencia heredada o adquirida a la proteína C activada, como el factor V-mutación (factor V Leiden), y las deficiencias heredadas o adquiridas en antitrombina III, proteína C, proteína S, heparina cofactor II. Otras condiciones que se sabe están asociadas con hipercoagulabilidad y patología trombo-embólica incluyen anticuerpos antifosfolipídicos circulantes (Lupus anticoagulante), homocisteinemia, trombocitopenia inducida por heparina y

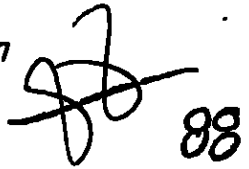


defectos en la fibrinólisis, al igual que los síndromes de coagulación (por ejemplo coagulación intravascular diseminada (DIC) y lesiones vasculares en general (por ejemplo debido a cirugía).

El tratamiento de las condiciones cuando hay un exceso de trombina indeseable sin señales de hipercoagulabilidad, por ejemplo en patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer.

Unos estados patológicos particulares que se pueden mencionar incluyen el tratamiento terapéutico y / o profiláctico de la trombosis venosa (por ejemplo DVT) y embolia pulmonar, trombosis arterial (por ejemplo en infarto del miocardio, angina inestable, infarto cerebral debido a una trombosis y trombosis arterial periférica), y una embolia sistémica generalmente de una aurícula durante una fibrilación auricular (por ejemplo una fibrilación auricular no valvular) o del ventrículo izquierdo después de un infarto transparietal del miocardio, o causado por una insuficiencia cardíaca congestiva; la profilaxis de una re-oclusión (es decir trombosis) después de una trombolisis, una angioplastia transluminal percutánea (PTA) y cirugías de derivación coronaria (*bypass*); la prevención de una recurrencia de trombosis después de una microcirugía y de la cirugía vascular en general.

Otras indicaciones incluyen el tratamiento terapéutico y / o profiláctico de una coagulación intravascular diseminada ocasionada por bacterias, trauma múltiple, intoxicación o cualquier otro mecanismo; tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con superficies extrañas en el cuerpo como injertos vasculares, *stents* vasculares, catéteres vasculares, válvulas protésicas mecánicas y biológicas o cualquier otro dispositivo médico; y tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con dispositivos médicos por fuera del cuerpo como durante una cirugía cardiovascular empleando un sistema de circulación extracorporeal o en hemodiálisis; el tratamiento terapéutico y / o profiláctico del síndrome disneico agudo idiopático del adulto, fibrosis pulmonar después de radioterapia o quimioterapia, choque septicémico, septicemia, reacciones inflamatorias, que incluyen, pero no se limitan a edema, aterosclerosis



aguda o crónica como arteriopatía coronaria y la formación de placas ateroscleróticas, patología arterial cerebral, infarto cerebral, trombosis cerebral, embolia cerebral, patología arterial periférica, isquemia, angina (incluyendo la angina inestable), daños por revascularización, restenosis después de una angioplastia transluminal percutánea (PTA) y cirugía de desviación de arterias coronarias.

La formulación de la presente invención puede comprender también cualquier (cualquiera) agente(s) antitrombótico(s) con un mecanismo de acción diferente del de los compuestos de la fórmula (I), como uno o varios de los siguientes: los agentes antiplaquetarios del ácido acetilsalicílico, ticlopidina y clopidogrel; receptor tromboxano y / o inhibidores de sintetasa, antagonistas del receptor fibrinogen; miméticos de la prostaciclina; inhibidores de fosfodiesterasa; antagonistas del ADP-receptor (P_2T); e inhibidores de carboxipeptidasa U (CPU).

Los compuestos de la fórmula (I) que inhiben la tripsina y / o trombina también pueden ser útiles en el tratamiento de la pancreatitis.

Así, las formulaciones de la invención están indicadas tanto en el tratamiento terapéutico y / o profiláctico de estas condiciones.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se dispone un método de tratamiento de una condición donde se requiere una inhibición de trombina; método que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación de la invención a una persona que padece de o es susceptible de padecer de la citada condición.

En aún otro aspecto, la presente invención dispone una formulación de la invención para la manufactura de un medicamento para el uso en el tratamiento de la trombosis.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se dispone un método de tratamiento de la trombosis, método que comprende la administración de una formulación de la invención a una persona que padece de o es susceptible de padecer la citada condición.

Para evitar cualquier duda, con "tratamiento" incluimos el tratamiento terapéutico al igual que la profilaxis, de una condición.

89

Las cantidades apropiadas del ingrediente activo en las formulaciones (oral o parenteral), formulaciones concentradas, y composiciones sólidas, de la invención dependen de muchos factores como la naturaleza de ese ingrediente (base / sal libre etc.), la dosis que se requiere en una formulación oral o en una formulación parenteral final "lista para ser empleada", que está o deberá estar preparada, y la naturaleza y las cantidades de otros constituyentes de la formulación. Sin embargo una dosis diaria típica de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está en el rango de 0.001-100 mg/kg por peso corporal en la administración oral y de 0.001-50 mg/kg por peso corporal en la administración parenteral, excluyendo el peso de cualquier antagonista del ión ácido, independientemente del número de dosis individuales que se administren durante el transcurso de ese día. En el caso de que la administración de una formulación parenteral de liberación inmediata sea continua (por ejemplo a modo de infusión), una dosis oral diaria preferida es de 20-500mg y una dosis parenteral preferida está en el rango de 0.1-50mg.

Procedimientos Generales

Se efectuó una TLC en gel de sílice. Se efectuó un análisis HPLC empleando una columna de 46 mm X 250 mm Chiralcel OD con una columna de protección de 5 cm. La temperatura de la columna se mantuvo en 35°C. Se utilizó un detector de flujo 1.0 mL/min. Se empleó un detector de UV Gilson 115 a 228 nm. La fase móvil constó de hexanos, etanol y ácido trifluoroacético y se enumeraron las proporciones respectivas para cada compuesto. Típicamente, el producto se disolvió en una cantidad mínima de etanol y este se disolvió con la fase móvil.

En las Preparaciones A a I a continuación, se efectuó una LC-MS/MS utilizando un instrumento HP-1100 equipado con un inyector CTC-PAL y una columna 5 Tm, 4x100 mm ThermoQuest, Hypersil BDS-C18. Se utilizó un detector API-3000 (Sciex) MS. La tasa del flujo fue de 1.2 mL/min y la fase móvil (el gradiente) consistió en 10-90% de acetonitrilo con 90-10% de 4 mM aq. acetato de amonio, ambos conteniendo 0.2% de

FD 90

ácido fórmico. En caso contrario, se registraron unos espectros de masa de baja resolución (LRMS) utilizando un espectrómetro Micromass ZQ en modo de intercambio de ión posneg ESI (rango de masa m/z 100-800); y se registró un espectro de masa de alta resolución (HRMS) empleando un espectrómetro Micromass LCT en modo de ionización negativa ES (rango de masa m/z 100-1000) con Leucina Enkephalin ($C_{28}H_{37}N_5O_7$) como el estándar de masa interna.

El espectro 1H NMR se registró empleando tetrametilsilano como el estándar interno.

Los procesos para la síntesis de los compuestos de la fórmula (I) se incluyen en la Solicitud Internacional de Patente No. PCT/SE01/02657 (WO 02/44145, con primera fecha de prioridad del 1 de diciembre de 2000, presentada el 30 de noviembre de 2001, publicada el 6 de junio de 2002)), cuya información relevante se incorpora a la presente.

Preparación A: Preparación del Compuesto A

(i) 3-Cloro-5-metoxibenzaldehído

Se agregó 3,5-Dicloroanisol (74.0 g, 419 mmol) en THF (200 mL) en forma de goteo al metal de magnesio (14.2 g, 585 mmol, previamente lavado con 0.5 N HCl) en THF (100 mL) a 25°C. Después de la adición, se agregó 1,2-dibromoetano (3.9 g, 20.8 mmol) en forma de goteo. La mezcla resultante marrón oscura 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 fraccionó con dietil éter (3 x 400 mL) y 6N HCl (500 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución salina (300 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *al vacío* para producir un aceite. Una cromatografía instantánea (2x) en gel de sílice levigada 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).

4191

(ii) 3-Cloro-5-hidroxibenzaldehído

Una solución de 3-cloro-5-metoxibenzaldehído (22.8 g, 134 mmol; consultar el paso (i) arriba) en CH_2Cl_2 (250 mL), se enfrió a 0°C . Se agregó tribromuro de boro (15.8 mL, 167 mmol) en forma de goteo durante 15 min. Después de revolver la mezcla de la reacción durante 2 h, lentamente se agregó H_2O (50 mL). Luego la solución se extrajo con Et_2O (2 x 100 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *al vacío*. Una cromatografía instantánea en gel de sílice levigada 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; ver el paso (ii) arriba) en 2-propanol (250 mL) y 30% KOH (100 mL) se calentó a reflujo. Mientras se revolvía, se agregó CHClF_2 en forma de burbujas a la mezcla de la reacción durante 2 h. La mezcla de la reacción se enfrió, se acidificó con 1N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Los productos orgánicos se lavaron con solución salina (100 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *al vacío*. Una cromatografía instantánea en gel de sílice levigada 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, $J_{\text{H}_\text{F}} = 71.1$ Hz, 1H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

Una solución de 3-cloro-5-difluorometoxibenzaldehído (4.6 g, 22.3 mmol; ver el paso (iii) arriba) en CH_2Cl_2 (200 mL) se enfrió a 0°C . Se agregó ZnI_2 (1.8 g, 5.6 mmol) y cianuro de trimetilsilil (2.8 g, 27.9 mmol) y se dejó que la mezcla de la reacción se calentara a temperatura ambiente y se revolió durante 15 h. La mezcla se concentró parcialmente *al vacío* produciendo el

4292

compuesto del subtítulo como un líquido, que se empleó directamente en el paso (v) abajo sin una posterior purificación o caracterización.

(v) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt

Se agregó Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OTMS)CN (6.82 g, se asume 22.3 mmol; ver el paso (iv) arriba) en forma de goteo a HCl/EtOH (500 mL). La mezcla de la reacción se revolvió durante 15 h, luego se concentró parcialmente *al vacío* produciendo el compuesto del subtítulo como un líquido, que se empleó en el paso (vi) sin una posterior purificación o caracterización.

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

Se disolvió Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt (6.24 g, se asume 22.3 mmol; ver el paso (v) arriba) en THF (250 mL), se agregó 0.5M H₂SO₄ (400 mL) y la reacción se revolvió a 40°C durante 65 h, se enfrió y luego se concentró parcialmente *al vacío* para extraer la mayor parte del THF. Luego la mezcla de la reacción se extrajo con Et₂O (3 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró *al vacío* para obtener el compuesto del subtítulo como un sólido, que se utilizó en el paso (vii) sin una posterior purificación o caracterización.

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

Se revolvió una solución de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt (6.25 g, se asume 22.3 mmol; ver el paso (vi) arriba) en 2-propanol (175 mL) y KOH al 20% (350 mL) a temperatura ambiente durante 15 h. Luego la reacción se concentró parcialmente *al vacío* para extraer la mayor parte del 2-propanol. El resto de la mezcla se acidificó con 1M H₂SO₄, se extrajo con Et₂O (3 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄) y se concentró *al vacío* para producir un sólido. Una cromatografía instantánea en gel de sílice levigada con CHCl₃:MeOH: concentrado NH₄OH (6:3:1) produjo la sal de amonio del compuesto del subtítulo. Luego la sal de amonio se disolvió en una mezcla de EtOAc (75 mL) y H₂O (75 mL) y se acidificó con 2N HCl. La

A393

capa orgánica se separó y se lavó con solución salina (50 mL), se secó (Na_2SO_4) y se concentró *al vacío* para obtener el compuesto del subtítulo (32 g, 57% de los pasos (iv) a (vii)).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H), 5.16 (s, 1H).

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (a) y $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$

Una mezcla de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (3.2 g, 12.7 mmol; ver el paso (vii) arriba) y Lipase 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 la reacción se enfrió, se filtró mediante un Celite® y la torta filtrada resultante se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró *al vacío* y se sometió a una cromatografía instantánea en gel de sílice levigada con $\text{CHCl}_3\text{:MeOH: concentrado NH}_4\text{OH}$ (6:3:1) produciendo las sales de amonio de los compuestos (a) y (b) del subtítulo. El compuesto (a) como una sal, se disolvió en H_2O , se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con solución salina, se secó (Na_2O_4), se filtró y se concentró *al vacío* para obtener el compuesto (a) del subtítulo (1.2 g, 37%).

Para el Compuesto (a) del subtítulo

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

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

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (1.1 g, 4.4 mmol; ver el paso (viii) arriba) y H-Aze-Pab(Teoc) (ver 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 revolió a 0°C durante 2 h y luego se revolió a temperatura ambiente durante 15 h más. La mezcla de la reacción se concentró *al vacío* y se sometió a una cromatografía instantánea en gel de sílice (3 x), se levigó

4494

primero con $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (9:1), luego con $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) y finalmente se levigó con $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (95:5) para obtener el compuesto del subtítulo (1.0 g, 37%) como un sólido blanco.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , 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, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H), 5.12 y 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)

MS (m/z) 611(M + 1)⁺

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

Se disolvió $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0.40 g, 0.65 mmol; ver el paso (ix) arriba), en 20 de acetonitrilo y se agregó 0.50 g (6.0 mmol) de O-metil clorhidrato de hidroxilamina. La mezcla se calentó a 70°C durante 2 h. El solvente se evaporó y el residuo se fraccionó 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, solución salina, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se evaporó. Rendimiento: 0.41 g (91%).

^1H -NMR (400 MHz; CDCl_3): 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

Se disolvió $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)}$ (0.40 g, 0.62 mmol; ver el paso (x) arriba), en 5 de TFA y se dejó reaccionar durante 30 min. El TFA se evaporó y el residuo se fraccionó entre acetato de etilo y NaHCO_3 (aq.). La fase acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con agua, solución salina, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se evaporó. El producto se secó por congelamiento a partir de agua / acetonitrilo. No se requirió ninguna purificación. Rendimiento: 0.28 g (85%).

^1H -NMR (600 MHz; CDCl_3): δ 7.89 (bt, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.28 (d, 2H),

4595

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).

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

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

Preparación B: Preparación del Compuesto B

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

Se disolvió (metilsulfinil)(metiltio)metano (7.26g, 0.0584 mol) en 100 de THF seco bajo argón y se enfrió a -78°C . Se agregó butilitio en hexano (16 1.6M, 0.0256 mol) en forma de goteo mientras se revolvía. La mezcla se revolvió durante 15 min. Mientras tanto, se enfrió una solución de 3,4,5-trifluorobenzonitrilo (4.0 g, 0.025 mmol) en 100 de THF seco a -78°C bajo argón y se agregó la solución anterior mediante una cánula a la solución posterior durante un periodo de 35 min. Después de 30 min, se extrajo del baño de enfriamiento y cuando la reacción alcanzó la temperatura ambiente, se vertió en 400 de agua. El THF se evaporó y el resto de la capa acuosa se extrajo tres veces con dietil éter. La fase combinada de éter 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, diasterómero), 4.91 (s, 1H, diasterómero), 2.88 (s, 3H, diasterómero), 2.52 (s, 3H, diasterómero), 2.49 (s, 3H, diasterómero), 2.34 (s, 3H, diasterómero), 1.72 (amplio, 1H)

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

Se disolvió 2,6-difluoro-4[(metilsulfinil)(metiltio)metil]benzonitrilo (2.17 g, 832 mmol; ver el paso (i) arriba) en 90 de THF y se agregó 3.5 de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 3 días y posteriormente se vertió en 450 de agua. Luego se extrajo tres veces con EtOAc y la fase etérea combinada se lavó dos veces con bicarbonato de

4696

sodio acuoso y con solución salina, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 1.36 g (98%). La posición del grupo formilo se estableció por ^{13}C NMR. La señal de carbonos con flúor en 162.7 ppm exhibió el patrón de acople esperado con dos constantes de acople en el orden de 260 Hz y 6.3 Hz correspondiendo respectivamente a un acople *ipso* y a un acople *meta* de los átomos de flúor.

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

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

Se disolvió 2,6-difluoro-4-formilbenzonitrilo (1.36 g, 8.13 mmol; ver el paso (ii) arriba) en 25 de metanol y se enfrió en un baño de hielo. Se agregó borohidruro de sodio (0.307 g, 8.12 mmol) en porciones y se revolvió; y la reacción se dejó durante 65 min. El solvente se evaporó y el residuo se fraccionó entre dietil éter y bicarbonato de sodio acuoso. La capa etérea se lavó con más bicarbonato de sodio acuoso y solución salina, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cristalizó pronto y se podía emplear sin más purificación. Rendimiento: 1.24 g (90%).

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

(iv) 4-ciano-2,6-difluorobencilo metanosulfonato

A una solución de 2,6-difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo (1.24 g, 7.32 mmol enfriada con hielo; ver el paso (iii) arriba) y cloruro de metanosulfonilo (0.93 g, 8.1 mmol) en 60 de cloruro de metileno se le agregó trietilamina (0.81 g, 8.1 mmol) y se revolvió. Después de 3 h a 0°C , la mezcla se lavó dos veces con 1M HCl y una vez con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto se podía utilizar sin más purificación. Rendimiento: 1.61 g (89%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (m, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(v) 4-azidometil-2,6-difluorobenzonitrilo

Una mezcla de 4-ciano-2,6-difluorobencilo metanosulfonato (1.61 g, 6.51 mmol; ver el paso (iv) arriba) y azida de sodio (0.72 g, 0.0111 mol) en 10 de

47 97

agua y 20 de DMF se revolvió a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente el resultado se vertió en 200 de agua y se extrajo tres veces con dietil éter. La fase etérea combinada se lavó cinco veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Se evaporó una muestra muy pequeña para efectos de una NMR y el producto se cristalizó. El resto se evaporó con cautela pero no hasta que se secase por completo. Rendimiento (en teoría 1.26 g) se asumió que fue casi cuantitativo con base en la NMR y la HPLC.

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

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

Esta reacción se desarrolló de acuerdo con el procedimiento descrito en *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. A una suspensión de 520 mg de 10% Pd/C (humedad del 50%) en 20 de agua, se agregó una solución de borohidruro de sodio (0.834 g, 0.0221 mol) en 20 de agua. Resultó alguna evolución en gas. Se disolvió 4-azidometil-2,6-difluorobenzonitrilo (1.26 g, 6.49 mmol; ver el paso (v) arriba) en 50 de THF y se agregó a la mezcla acuosa en un baño de hielo durante 15 min. La mezcla se revolvió durante 4 h, y luego se agregó 20 de 2M HCl y la mezcla se filtró mediante Celite. El Celite se enjuagó con más agua y la fase acuosa combinada se lavó con EtOAc y posteriormente se alcalinizó con 2M de NaOH. Luego se extrajo 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

Una solución de 4-aminometil-2,6-difluorobenzonitrilo (0.876 g, 5.21 mmol; ver el paso (vi) arriba) se disolvió en 50 de THF y se agregó di-*tert*-butil dicarbonato (1.14 g, 5.22 mmol) en 10 de THF. La mezcla se revolvió durante 3.5 h. El THF se evaporó y el residuo se fraccionó entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó tres veces con 0.5 M HCl y agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto se podía utilizar sin más purificación. Rendimiento: 138 g (99%).

98

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 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*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo (138 g, 5.16 mmol; ver el paso (vii) arriba), clorhidrato de hidroxilamina (1.08 g, 0.0155 mol) y trietilamina (1.57 g, 0.0155 mol) en 20 de etanol se revolvió a temperatura ambiente durante 36 h. El solvente se evaporó y el residuo se fraccionó entre agua y cloruro de metileno. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto se podía utilizar sin más purificación. Rendimiento: 1.43 g (92%).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 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 desarrolló de acuerdo con el procedimiento descrito por Judkins y colaboradores, *Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,6-diF)(OH) (1.32 g, 437 mmol; ver el paso (viii) arriba), se hidrogenó anhídrido acético (0.477 g, 4.68 mmol) y 442 mg de 10% Pd/C (humedad del 50%) en 100 de ácido acético a una presión de 5 atm durante 3.5 h. La mezcla se filtró mediante Celite, se enjuagó con etanol y se evaporó. El residuo se secó por congelamiento de acetonitrilo y agua y unas pocas gotas de etanol. El producto del subtítulo se podía utilizar 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; ver el paso (ix) arriba) en 100 de THF y 1 de agua se agregó 2-(trimetilsilil)eti p-nitrofenil carbonato (1.67 g, 5.89 mmol). Se agregó una solución de carbonato de potasio (1.57 g, 0.0114 mol) en 20 de agua en forma de goteo

4499

durante 5 min. La mezcla se revolvió durante la noche. El THF se evaporó y el residuo se fraccionó 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. Una cromatografía instantánea en gel de sílice con heptano/EtOAc = 2/1 produjo 1.71 g (73%) del 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)

Se disolvió Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1.009 g, 235 mmol; ver el paso (x) arriba) en 50 de EtOAc saturado con HCl(g) . La mezcla se dejó durante 10 min., se evaporó y se disolvió en 18 de DMF, y luego se enfrió en un baño de hielo. Se añadió Boc-Aze-OH (0.450 g, 2.24 mmol), PyBOP (1.24 g, 2.35 mmol) y por último diisopropiletil amina (1.158 g, 8.96 mmol). La mezcla de la reacción se revolvió durante 2 h y luego se vertió en 350 de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con solución salina, se secó (SO_2SO_4) y se evaporó. Una cromatografía instantánea en gel de sílice con heptano:EtOAc (1:3) produjo 1.097 g (96%) del compuesto deseado.

^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) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Se disolvió Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (0.256 g, 0.500 mmol; ver el paso (xi) arriba) en 20 de EtOAc saturado con HCl(g) . La mezcla se dejó durante 10 min. y se evaporó y se disolvió en 5 de DMF. Se agregó -Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0.120 g, 0.475 mmol; consultar Preparación A (viii) arriba), PyBOP (0.263 g, 0.498 mmol) y por último diisopropiletil amina (0.245 g, 1.89 mmol). La mezcla de la reacción se revolvió durante 2 h y luego se vertió en 350 de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La

fase orgánica combinada se lavó con solución salina, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Una cromatografía instantánea 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe}, \text{Teoc})$

Se calentó 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; ver el paso (xii) arriba) y O-metil clorhidrato de hidroxilamina (50 mg, 0.60 mmol) en 4 de acetonitrilo a 70°C durante 3 h. El solvente se evaporó y el residuo se fraccionó entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto se podía utilizar sin más purificación. Rendimiento: 58 mg (87%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 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

Se disolvió $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe}, \text{Teoc})$ (58 mg, 0.086 mmol; ver el paso (xiii) arriba) en 3 de TFA, se enfrió en un baño de hielo 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 (Na_2SO_4) 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 del Compuesto C

(i) (2-monofluoroetil) metanosulfonato

A una solución mezclada en forma magnética de 2-fluorooctanol (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 se revolvió 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 solución salina (75 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró *al vacío* para obtener el compuesto del subtitulo (9.7 g, 88%) como un aceite amarillo que se utilizó 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, 525 mmol; consultar Preparación A(ii) 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; ver el paso (i) arriba) en DMF (120 mL) en forma de goteo a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 100°C durante 5 h y luego se revolvió durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a 0°C, se vertió sobre 2N HCl helado y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se

10

lavaron con solución salina, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *al vacío*. El aceite marrón se sometió a una cromatografía en gel de sílice levigado con Hex:EtOAc (4:1) para obtener el compuesto del sustituto (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 = 4Hz, 1H), 4.71 (t, J = 3Hz, 1H), 4.33 (t, J = 3Hz, 1H), 4.24 (t, J = 3Hz, 1H).

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

A una solución de 3-cloro-5-monofluorotobenzaldehído (7.6 g, 37.3 mmol; ver el paso (ii) arriba) y yoduro de zinc (3.0 g, 938 mmol) en CH₂Cl₂ (310 mL) se agregó cianuro de trimetilsilil (7.4 g, 75.0 mmol) en forma de goteo a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se revolvió a 0°C durante 3 h y a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con H₂O (300 mL), la capa orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró *al vacío* para obtener el compuesto del sustituto (10.6 g, 94%) como un aceite marrón que se empleó sin más purificación o caracterización.

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

Se concentró ácido clorhídrico (100 mL), se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OTMS)CN (10.6 g, 5.8 mmol; ver el paso (iii) arriba) y la solución se revolvió a 100°C durante 3 h. Después de enfriarla a temperatura ambiente, la reacción se enfrió aún más a 0°C, se alcalinizó 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 combinados de EtOAc se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *al vacío* para obtener el compuesto del sustituto (8.6 g, 98%) como un sólido amarillo pálido que se utilizó sin más purificación.

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

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)

Se calentó una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (8.6 g, 34.5 mmol; ver el paso (iv) arriba) y Lipase PS “Amano” (4.0 g) en acetato de vinilo (250 mL) y MTBE (250 mL) a 70°C bajo nitrógeno durante 3 d. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y la enzima se extrajo por filtración mediante Celite®. La torta del filtrado se lavó con EtOAc y el filtrado se concentró *al vacío*. Una cromatografía en gel de sílice levigada con CHCl₃:MeOH:Et₃N (90:8:2) produjo la sal de trietilamina del compuesto (a) del subítulo como un aceite amarillo. Adicionalmente se obtuvo la sal de trietilamina del compuesto (b) del subítulo (4.0 g). La sal del compuesto (b) del subítulo se disolvió en H₂O (250 mL), se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *al vacío* para obtener el compuesto (b) del subítulo (2.8 g, 32%) como un aceite amarillo.

Datos para el Compuesto (b) del Subítulo:

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

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).

(vi) Compuesto C

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (818 mg, 3.29 mmol; ver el paso (v) arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAZE-Pab(OMe)-2HCl (1.43 g, 4.27 mmol, consultar solicitud internacional de patente WO 00/42059), PyBOP (1.89 g, 3.68 mmol), y DIPEA (1.06 g, 8.23 mmol). La reacción se revolvió a 0°C durante 2 h y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *al*

vacío y el residuo se sometió a una cromatografía en gel de sílice dos veces, levigada primero con $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) y posteriormente con $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) para obtener el compuesto del título (880 mg, 54%).

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

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , compleja mezcla 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).

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

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

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

Compuesto D

Se disolvió $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0.045 g, 0.074 mmol; consultar Preparación A (ix) arriba), en 3 de TFA y se dejó reaccionar durante 1 h. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento de agua / acetonitrilo para obtener un rendimiento de 0.043 g (100%) del compuesto del subtítulo como su sal TFA.

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

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

MS (m/z) 465 (M-1), 467 (M+ 1)⁺

105

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

Compuesto E

Se disolvió Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81 mg, 0.127 mmol; consultar Preparación B (xii) arriba) en 0.5 de cloruro de metileno y se enfrió en un baño de hielo. 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 mediante RPLC de preparación con CH₃CN:0.1M NH₄OAc (35:65) para producir 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 del 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; consultar Preparación C (v) arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó 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

106

revolvió a 0°C durante 2 h y luego a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se concentró *al vacío* y el residuo se sometió a una cromatografía en gel de sílice dos veces, levigada primero con CHCl₃:EtOH (15:1) y luego con EtOAc:EtOH (20:1) para obtener el compuesto del subtítulo (450 mg, 20%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 80-88°C

R_f = 0.60 (10:1 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, compleja mezcla 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

Se disolvió Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.357 g, 0.589 mmol; ver el paso (i) arriba), en 10 de TFA y se dejó reaccionar durante 40 min. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento de agua / acetonitrilo hasta obtener un rendimiento de 0.33 g (93%) del compuesto del título como su sal TFA.

¹H-NMR (600 MHz; CD₃OD) 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 múltiples, 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).

¹³C-NMR (150 MHz; CD₃OD): (carbonilo y / o carbonos de amidina) δ 172.8, 172.1, 167.4.

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

Preparación del Compuesto 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)

Se disolvió Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.148 g, 0.24 mmol; consultar Preparación A paso (ix) arriba), en 9 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 mediante Celite® y se evaporó. El producto crudo (0.145 g; 75% puro) se empleó directamente en el siguiente paso, sin más purificación.

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

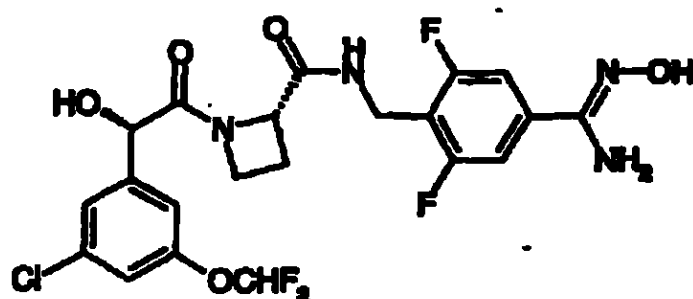
Se disolvió Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-pab(OH, Teoc) (0.145 g, 0.23 mmol; ver el paso (i) arriba), en 0.5 de CH₂Cl₂ y 9 de TFA. La reacción se dejó continuar durante 60 minutos. El TFA se evaporó y el residuo se purificó empleando HPLC de preparación. Las fracciones de interés se agruparon y se secaron por congelamiento (2x), dando un rendimiento de 72 mg (rendimiento en 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 del Compuesto H: Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-pab(2,6-diF)(OH)

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

Se disolvió Boc-(S)Aze-OH (1.14 g, 5.6 mmol) en 45 de DMF. Se agregó 4-aminometil-2,6-difluorobenzonitrilo (1.00 g, 5.95 mol, consultar Ejemplo 1(xiv) arriba), PyBOP (3.10 g, 5.95 mmol) y DIPEA (3.95 mL, 22.7 mmol) y la solución se revolvió a temperatura ambiente durante 2 h. El solvente se evaporó y el residuo se fraccionó entre H₂O y EtOAc (75 cada uno). La fase acuosa se extrajo con 2 x 50 de EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con solución salina y se secó sobre Na₂SO₄. Una cromatografía instantánea (SiO₂, EtOAc/heptano (3/1)) produjo el compuesto del subtítulo (1.52 g, 77%) como un aceite que se 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

Se disolvió Boc-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0.707 g, 2.01 mmol, ver el paso (i) arriba) en 60 de EtOAc saturado con HCl(g). El solvente se evaporó después de revolver a temperatura ambiente durante 15 minutos. El residuo se disolvió en CH₃CN/H₂O (1/1) y se secó por congelamiento para producir el compuesto del subtítulo (0.567 g, 98%) como un polvo amorfo casi blanco.

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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)

(12) 109

Se disolvió $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0.40 g, 1.42 mmol, consultar Ejemplo 1(viii) arriba) en 10 de DMF y se agregó $\text{H-(S)Aze-NHCH}_2\text{-Ph}(2,6\text{-diF}, 4\text{-CN}) \times \text{HCl}$ (0.43 g, 1.50 mmol, ver el paso (ii) arriba) y PyBOP (0.779 g, 1.50 mmol), seguido de DIPEA (1.0 mL, 5.7 mmol). El solvente se evaporó después de revolver a temperatura ambiente durante 2h. El residuo se fraccionó entre H_2O (200 mL) y EtOAc (75 mL). La fase acuosa se extrajo con 2 x 75 de EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con solución salina y se secó sobre Na_2SO_4 . Una cromatografía instantánea (SiO_2 EtOAc/heptano (4/1)) produjo un rendimiento del compuesto del subtítulo (0.56 g, 81 %) como un aceite.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CD_3OD) 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)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (carbonos de carbonilo) δ 171.9, 171.8

MS (m/z) 484.0, 485.9 ($\text{M} - 1$), 486.0, 487.9 ($\text{M} + 1$)⁺

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

Se disolvió $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH}_2\text{-Ph}(2,6\text{-diF}, 4\text{-CN})$ (0.555 g, 1.14 mmol, del paso (iii) arriba) en 10 de EtOH (95%). A esta solución se agregó clorhidrato de hidroxilamina (0.238 g, 3.42 mmol) y Et_3N (0.48 mL, 3.44 mmol). Después de revolver a temperatura ambiente durante 14 h, el solvente se extrajo y el residuo se disolvió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con solución salina y H_2O y se secó sobre Na_2SO_4 . El producto crudo se purificó por medio del RPLC de preparación con CH_3CN :0.1 M NH_4OAc como fase móvil, para producir el compuesto del título como un polvo amorfo (0.429 g, 72%) después de secarlo por congelamiento.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotámetros: δ 7.35-7.1 (m, 5H), 6.90 (t, 1H, rotámetro mayor), 6.85 (t, 1H, rotámetro menor), 5.15 (s, 1H, rotámetro mayor), 5.12 (m, 1H, rotámetro menor), 5.08 (s, 1H, rotámetro menor), 4.72 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.12 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.04 (m, 1H, rotámetro menor), 3.94 (m, 1H, rotámetro menor), 2.62 (m, 1H, rotámetro menor), 2.48 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.22 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.10 (m, 1H, rotámetro 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 del 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)

Se disolvió Boc-Aze-Pab(Z) (consultar solicitud internacional de patente WO 97/02284, 92 mg, 0.197 mmol) en 10 de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante 10 min. El solvente se evaporó y el residuo se mezcló con Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.188 mmol; consultar Preparación C (v) arriba), PyBOP (109 mg, 0.209 mmol) y finalmente diisopropiletil amina (96 mg, 0.75 mmol) en 2 de DMF. La mezcla se revolvió durante 2 h y luego se vertió en 50 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 una cromatografía instantánea en gel de sílice con EtOAc:MeOH (9:1). Rendimiento: 100 mg (87%).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, mezcla de rotámetros) δ 7.85-7.75 (m, 2H), 7.45-7.25 (m, 7H), 7.11 (m, 1H, rotámetro mayor), 7.08 (m, 1H, rotámetro menor), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.13 (bt, 1H), 5.25-5.05 (m, 3H), 4.77 (m, 1H, parcialmente escondido por la señal CD₃OH), 4.5-3.9 (m, 7H), 2.64 (m, 1H, rotámetro menor), 2.47 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.25 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.13 (m, 1H, rotámetro menor).

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

Se mezcló clorhidrato de hidroxilamina (65 mg, 0.94 mmol) y trietilamina (0.319 g, 3.16 mmol) en 8 de THF y se sometió a ultrasonido durante 1 h a 40°C. Se agregó Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)) (96 mg, 0.156 mmol; ver el paso (i) arriba) con 8 más de THF. La mezcla se revolvió a 40°C durante 4.5 días. El solvente se evaporó y el producto crudo se purificó por medio de un RPLC de preparación 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 múltiples, 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 la Preparación de Sales**

Se empleó el siguiente método genérico para preparar las sales del Compuesto A: 200 mg del Compuesto A (consultar la preparación A arriba) se disolvió en 5 de MeOH. A esta solución se le agregó una solución del ácido correspondiente (1.0 equivalente molar) disuelta en 5 de MeOH. Después de revolver durante 10 minutos a temperatura ambiente, se extrajo el solvente por medio de un evaporador rotatorio. El resto del material sólido se volvió a disolver en 8 de acetonitrilo:H₂O (1:1). El secado por congelamiento produjo un material amorfo en cada caso.

Ácidos empleados:

112

(1S)-(+)-10-alcanforsulfónico
málico
ciclohexilsulfámico
fosfórico
dimetilfosfórico
p-toluenosulfónico
L-lisina
L- clorhidrato de lisina
sacarínico
metanosulfónico
clorhídrico

En la Tabla 1 aparecen los datos característicos.

Tabla 1

Sal	Pm ácido	Pm sal	LRMS	δ ppm (MeOD) H18, H19, H24 (consultar estructura al final del Método 9 abajo).
(1S)-(+)-10- alcanforsulfonato	232.20	729.20	230.9 495.1 497.0 727.3	7.57, 7.68, 3.97
maleato	116.07	612.97	114.8 495.1 497.0	7.45, 7.64, 3.89
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

113

dimetilfosfato	126.05	622.95	124.9 495.1	7.50, 7.66, 3.92
			497.0 621.2 623.0	
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
L-clorhidrato de 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 que se formaron en este Método fueron amorfas.

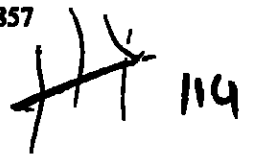
Método 2

Se prepararon otras sales amorfas del Compuesto A empleando unas técnicas análogas a las descritas en el Método 1 arriba a partir de los siguientes ácidos:

ácido hidrobromico (1:1 sal)

ácido clorhídrico (1:1 sal)

ácido sulfúrico (1:0.5 sal)



1,2- ácido etanodisulfónico (1:0.5 sal)
1S- ácido alcanforsulfónico (1:1 sal)
(+/-)-ácido alcanforsulfónico (1:1 sal)
ácido etanosulfónico (1:1 sal)
ácido nítrico (1:1 sal)
ácido toluenosulfónico (1:1 sal)
ácido metanosulfónico (1:1 sal)
p- ácido xilenosulfónico (1:1 sal)
2- ácido mesitilenosulfónico (1:1 sal)
1,5- ácido naftalenosulfónico (1:0.5 sal)
ácido naftalenosulfónico (1:1 sal)
ácido bencenosulfónico (1:1 sal)
ácido sacarínico (1:1 sal)
ácido maleico (1:1 sal),
ácido fosfórico (1:1 sal)
ácido D-glutámico (1:1 sal)
ácido L-glutámico (1:1 sal)
ácido D,L-glutámico (1:1 sal)
L-arginina (1:1 sal)
L-lisina (1:1 sal)
L-clorhidrato de lisina (1:1 sal)
glicina (1:1 sal)
ácido salicílico (1:1 sal)
ácido tartárico (1:1 sal)
ácido fumárico (1:1 sal)
ácido cítrico (1:1 sal)
ácido L-(-)-málico (1:1 sal)
ácido D,L-málico (1:1 sal)
ácido D-glucónico (1:1 sal)

Método 3: Preparación de Compuesto A Amorfo, sal de ácido etanosulfónico

Se disolvió el Compuesto A (203 mg; consultar Preparación A arriba) en etanol (3 mL) y se agregó ácido etanosulfónico (1 eq., 95%, 35 µL) a la solución. La mezcla se revolvió durante unos minutos, y luego el solvente se evaporó. El aceite resultante se suspendió en *iso*-octano y se evaporó hasta quedar seco y obtener un material sólido. Finalmente, se volvió a suspender la sustancia en *iso*-octano y nuevamente el solvente se evaporó y se obtuvo un sólido blanco, seco y amorfo. La sustancia se secó al vacío a 40°C durante la noche.

Métodos 4 a 9: Preparación de Compuesto A Cristalino, sal de ácido etanosulfónico
Método 4: Cristalización de Material amorfo

Se suspendió Compuesto A amorfo, sal de ácido etanosulfónico (17.8 mg; consultar Método 3 arriba) en metil *iso*-butil cetona (600 µL). Después de una semana se observaron unas agujas cristalinas las cuales se retiraron por filtración y se secaron al aire.

Métodos 5 a 7: Cristalizaciones de Reacción (sin Anti-solvente)

Método 5

Se disolvió Compuesto A (277 mg; consultar Preparación A arriba) en metil *iso*-butil cetona (3.1 mL). Se agregó ácido etanosulfónico (1 eq., 95%, 48 µL). La sal de etanosulfonato amorfo se precipitó de inmediato. Se agregó más metil *iso*-butil cetona (6 mL) y la lechada se trató con ultrasonido. Finalmente, se agregó una tercera porción de metil *iso*-butil cetona (3.6 mL) y luego la lechada se dejó durante la noche y se revolvió (agitador magnético). Al día siguiente, la sustancia se había transformado en agujas cristalinas. La lechada se retiró por filtración, se lavó con metil *iso*-butil cetona (0.5 mL) y se secó al aire.

Método 6

Se disolvió Compuesto A (236 mg; consultar Preparación A arriba) a temperatura ambiente en metil *iso*-butil cetona (7 mL). Se mezcló ácido etanosulfónico (1 eq., 41 µL) con 2 de metil *iso*-butil cetona en un frasco.

16

La solución del Compuesto A se ensemilló con Compuesto A cristalino, sal de ácido etanosulfónico (consultar Métodos 4 y 5 arriba). Luego se agregó 250 μ L de la solución metil *iso*-butil cetona de ácido etanosulfónico en porciones durante 45 minutos. La solución se ensemilló de nuevo, y la temperatura se incrementó a 30°C. Luego se agregó 500 μ L de la solución metil *iso*-butil cetona durante aproximadamente 1 hora. La lechada resultante se dejó durante la noche antes de agregar una cantidad final de la solución metil isobutil cetona / ácido durante 20 minutos. El frasco se enjuagó con 1.5 de metil *iso*-butil cetona, que se agregó a la lechada resultante. Después de otras 6 horas, se retiraron los cristales por filtración, se lavó con metil *iso*-butil cetona (2 mL) y se secó bajo presión reducida a 40°C. Se obtuvo un total de 258 mg de sal cristalina que corresponde a un rendimiento de aproximadamente 87%.

Método 7

Se disolvió Compuesto A (2.36 g; consultar Preparación A arriba) en metil *iso*-butil cetona (90 mL). Se agregaron cristales ensemillados (10 mg) del Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (consultar Métodos 4 a 6 arriba) a la solución, y luego se agregó ácido etanosulfónico (40 μ L) en dos porciones. Luego se añadieron otros cristales ensemillados (12 mg) y dos porciones de ácido etanosulfónico (2 x 20 μ L). La lechada se diluyó con metil *iso*-butil cetona (15 mL) antes de continuar con la adición de ácido etanosulfónico. Se agregó una cantidad total de 330 μ L de ácido etanosulfónico en porciones durante 1 hora. Se agregó una pequeña cantidad de cristales ensemillados y finalmente la lechada se dejó durante la noche y se revolvió. Al otro día, se retiraron los cristales por filtración, se lavaron con metil *iso*-butil cetona (2 x 6 mL) y se secaron bajo presión reducida a 40°C. Después de secado 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-solvente)

Método 8

117

Se disolvió Compuesto A (163 mg; consultar Preparación A arriba) en *iso*-propanol (1.2 mL). La solución se calentó a 35°C. Se agregó ácido etanosulfónico (28 µL). Luego, se agregó acetato de etilo (4.8 mL) y la solución se ensemilló con Compuesto A cristalino, sal de ácido etanosulfónico (consultar Métodos 4 a 7 arriba). La cristalización comenzó prácticamente de inmediato. La lechada se dejó durante unos 80 minutos a 35°C antes de dejarlo enfriar a temperatura ambiente (21°C). Dos horas más tarde, los cristales se retiraron 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 de producto cristalino del título que corresponde a un rendimiento de aproximadamente 82%.

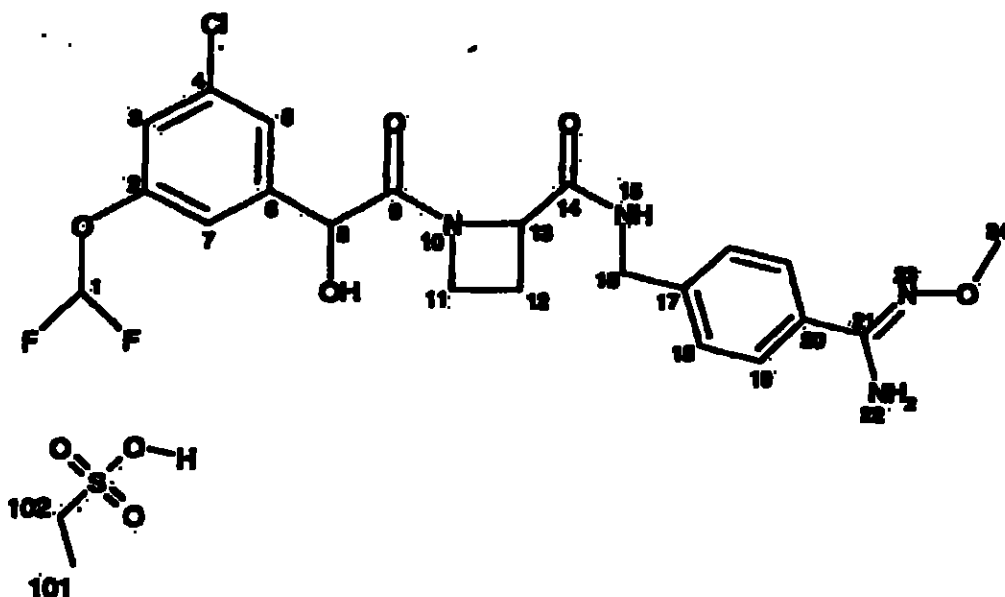
Método 9

Se disolvió Compuesto A (20.0 g; consultar Preparación A arriba) 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 transparente resultante se agregaron cristales semilla del Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (50 mg; consultar Métodos 4 a 8 arriba). Luego se agregó acetato de etilo (234 mL) durante 10 minutos. La solución resultante ligeramente opaca se ensemilló una vez más (70 mg) y se dejó durante una hora a 40°C y se revolvió para permitir el comienzo de la cristalización. Posteriormente se agregó un total de 352 de acetato de etilo a una tasa constante durante una hora. Cuando se había agregado todo el acetato de etilo, la lechada se dejó durante 1 hora, antes de enfriarse a 21°C durante 2 horas. Se permitió que la cristalización continuara durante una hora a 21°C antes de retirar los cristales por filtración, se lavó dos veces con acetato de etilo (50 + 60 mL) y finalmente se secó bajo presión reducida a 40°C durante la noche. Se obtuvo un total de 21.6 g de sal cristalina blanca, correspondiendo a un rendimiento de aproximadamente 90%.

El Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico se caracterizó con una NMR como sigue: se disolvió 23 mg de la sal en metanol deuterado (0.7 mL)

118

troscopia. Se empleó una combinación de experimentos 1D (^1H , ^{13}C y NOE selectivo) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC) por medio de una NMR. Toda la información concordó con la estructura teórica de la sal que aparece abajo. La molécula existe en dos conformaciones en metanol. Con base 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 fue de 70:30. No se pudo observar H22 puesto que estos protones se encontraban en un rápido intercambio con el solvente CD_3OD .

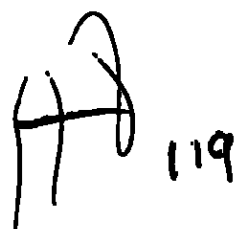


Las resonancias tanto del protón como del carbono correspondiendo a la posición 1 se fraccionan debido al acople en espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acople son $^2J_{\text{HF}}=73 \text{ Hz}$ y $^1J_{\text{CF}}=263 \text{ Hz}$.

La asignación del desplazamiento químico y las correlaciones protón - protón de ^1H y ^{13}C en la NMR aparecen en la Tabla 2.

Tabla 2

Atomo No.	Tipo	^{13}C despla/ppm ^a	^1H despla/ppm ^b y multiplicidad ^c	J_{HH}/Hz
1	CH	117.5 ^c	6.90 (t)	73 ($^2J_{\text{HF}}$)
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)	
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 (AB-patrón)	15.9
			4.46 (AB-patrón)	15.9
16'		43.6	4.53 (AB-patrón)	15.9
			4.49 (AB-patrón)	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 se observó	
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 solvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del solvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplete, br=amplio, d=doblete

^dObtenido en el experimento gCOSY

^eLa resonancia es un tripleto debido al acople con los dos núcleos del flúor.

¹J_{CF}=263 Hz.

HRMS calculado para C₂₄H₂₉ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 605.1284, se encontró 605.1296.

Se analizaron los cristales del Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (obtenidos mediante uno o varios de los Ejemplos 4 a 9 arriba) por medio de XRPD y los resultados se tabulan abajo (Tabla 3) y aparecen en la Figura 1.

121

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
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

121
122

2.67	3.	vw
2.56	5	w
2.50	5	w
2.46	7	m
2.34	4	w

DSC mostró una endoterma con temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de *ca.* 131°C. TGA mostró una reducción en masa de *ca.* 0.2% (peso/peso) alrededor del punto de fusión. El análisis DSC repetido con una muestra con un contenido de solvente inferior mostró una temperatura de iniciación de la fusión de *ca.* 144°C.

Método 10: Preparación de Compuesto A amorfo, sal de ácido bencenosulfónico

Se disolvió Compuesto A (199 mg; consultar Preparación A arriba) en etanol (2 mL). Se disolvió ácido bencenosulfónico (1 eq. 90%, 70mg) en etanol (1 mL) en un frasco. Se agregó la solución de etanol del ácido al Compuesto A y el frasco se enjuagó con 1 de etanol, que luego se agregó a la mezcla. La mezcla se revolvió durante unos minutos y luego el etanol se evaporó hasta formar un aceite. Se agregó acetato de etilo (3 mL) y nuevamente el solvente se evaporó hasta quedar seco. Se formó un sólido amorfo.

Métodos 11 a 13: Preparación de Compuesto A Cristalino, sal de ácido bencenosulfónico

Método 11: Cristalización de material amorfo

Se suspendió Compuesto A amorfo sal de ácido bencenosulfónico (20.7 mg; consultar Método 10 arriba) en acetato de etilo (600 TL). Después de 5 días, se observaron unas agujas cristalinas en la lechada.

Métodos 12 y 13: Cristalización de Reacción

Método 12

Se disolvió Compuesto A (128 mg; consultar Preparación A arriba) en

72
123

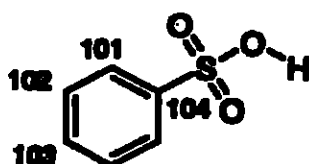
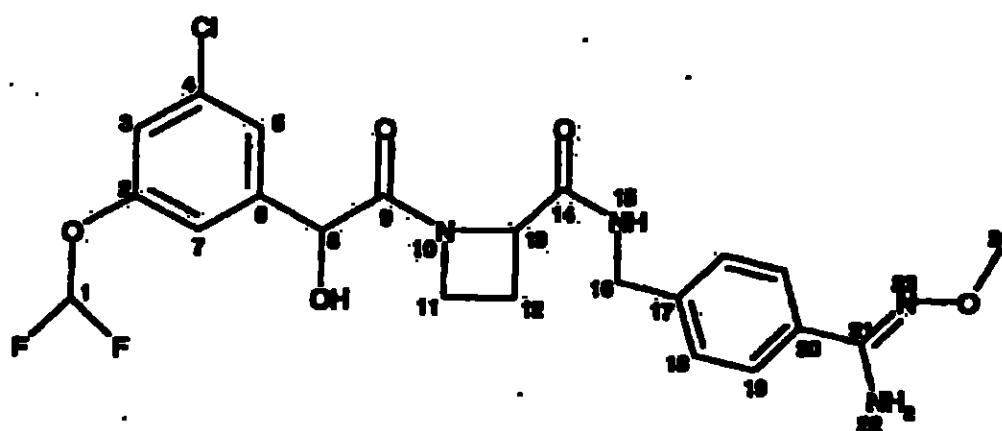
acetato de etilo (3 mL). La solución se ensemilló con la lechada del Método 11 arriba. Luego se agregó ácido bencenosulfónico (1 eq., 90%, 45 mg). La sal de ácido bencenosulfónico se precipitó de inmediato. Se agregó *iso*-Propanol a la lechada (0.8 mL) y la mezcla se ensemilló nuevamente. Dos días más tarde, la sustancia se había transformado en agujas cristalinas. La lechada se retiró por filtración, se lavó con acetato de etilo (3 x 0.2 mL) y se secó durante un periodo corto al vacío a 40°C. Se obtuvo un total de aproximadamente 140 mg de sólido blanco.

Método 13

Se disolvió Compuesto A (246 mg; consultar Preparación A arriba) en *iso*-propanol (1.52 mL). Se agregó ácido bencenosulfónico (88 mg, 90%). Se agregó acetato de etilo a la solución transparente (3 mL), y luego la mezcla se ensemilló para iniciar la cristalización. Después de 1 hora, se agregó más acetato de etilo (2.77 mL). Finalmente, se dejó que la lechada se cristalizara durante la noche y antes de retirar los cristales por filtración, se lavó con acetato de etilo (3 x 0.3 mL) y se secó a 40°C al vacío. Se obtuvo un total de 279 mg sal que corresponde a un rendimiento de aproximadamente 86%.

El Compuesto A, sal de ácido bencenosulfónico se caracterizó por medio de una NMR como sigue: se disolvió 20 mg de la sal en metanol deuterado (0.7 mL) troscopia. Se empleó una combinación de experimentos 1D (^1H , ^{13}C y NOE selectivo) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC) en la NMR. Toda la información concordó con la estructura teórica de la sal que aparece abajo. La molécula existe en dos conformaciones en metanol. Con base 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 fue de 70:30. No se pudo observar H22 puesto que estos protones se encontraban en un rápido intercambio con el solvente CD_3OD .

173
124



Las resonancias tanto del protón como del carbono correspondiendo a la posición 1 se fraccionan debido al acople en espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acople son $^2J_{HF}=74$ Hz Y $^1J_{CF}= 260$ Hz.

La asignación del desplazamiento químico y las correlaciones protón - protón de 1H y ^{13}C en la NMR aparecen en la Tabla 4.

Tabla 4

Atomo No.	Tipo	^{13}C despla/ppm ^a	1H despla/ppm ^b y multiplicidad ^c	J_{HH}/Hz
1	CH	117.5 ^e	6.89 (t)	74 ($^4J_{HF}$)
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)	

24
125

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)	
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-patrón) 4.44 (AB-patrón)	16.0 y 5.2 16.0 y 4.8
16'		43.6	4.51 (AB-patrón) 4.46 (AB-patrón)	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

126

20	C	124.9	-	
20'		124.9		
21	C	162.4		
21'		162.4		
22	NH ₂		No se observó	
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 solvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del solvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, t=tripleto, m=multiplete, br=amplio, d=doblete.

^dObtenido en el experimento gCOSY

^eLa resonancia es un tripleto debido al acople con los dos núcleos del flúor.

^fJ_{CF}=260 Hz.

^fconectividad difícil de determinar debido a la superposición entre las resonancias 102 y 103

HRMS calculado para C₂₈H₂₉ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 653.1284, se encontró 653.1312.

Se analizaron los cristales del Compuesto A, sal de ácido etanosulfónico (obtenidos mediante uno o varios de los Ejemplos 11 a 13 arriba) por medio de XRPD y los resultados se tabulan abajo (Tabla 5) y aparecen en la 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

126
127

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
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

HJ
128

2.16	4	w
2.03	3	vw

DSC mostró una endoterma con temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de *ca.* 152°C. TGA mostró una reducción en masa de *ca.* 0.1% (peso/peso) alrededor del punto de fusión.

Método 14: Preparación de Compuesto A amorfo, sal de ácido *n*-propanosulfónico

Se disolvió Compuesto A (186 mg; consultar Preparación A arriba) 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 solvente se evaporó hasta que se formó un sólido amorfo.

Métodos 15 y 16: Preparación de Compuesto A cristalino, sal de ácido *n*-propanosulfónico

Método 15: Cristalización de material amorfo

Se disolvió Compuesto A, amorfo sal de ácido *n*-propanosulfónico (20 mg; consultar Método 14 arriba) en *iso*-propanol (60 TL) y se agregó *iso*-propil acetato (180 TL). Se observaron unas agujas cristalinas tres días más tarde.

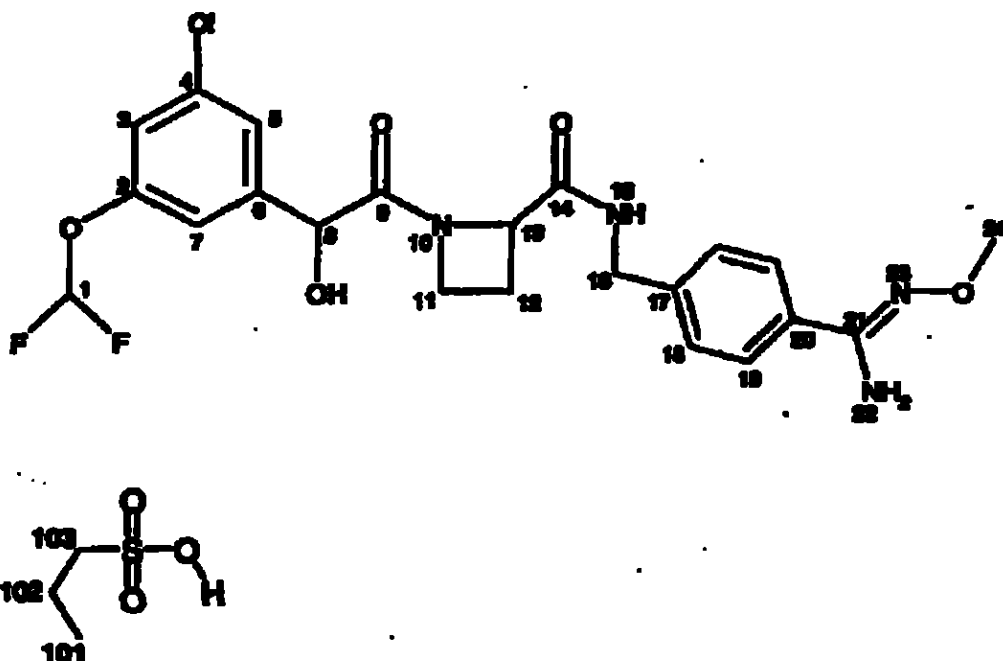
Método 16: Cristalización de Reacción

Se disolvió Compuesto A (229 mg; consultar Preparación A arriba) en *iso*-propanol (1.43 mL). Se agregó ácido *n*-Propanosulfónico (1 eq., 95%, 48 TL). Se agregó acetato de etilo (2 mL), y luego la solución se ensemilló con sal cristalina del Método 15 arriba. Se agregó más acetato de etilo (5 mL) y la lechada se dejó durante la noche para que se cristalizara. Los cristales se retiraron por filtración, se lavaron con acetato de etilo (3 x 0.3 mL) y se secaron al vacío a 40°C.

El Compuesto A, sal de ácido *n*-propanosulfónico se caracterizó por medio de una NMR como sigue: se disolvió 13 mg de la sal en metanol deuterado (0.7 mL) troscopia. Se empleó una combinación de experimentos 1D (¹H,

20
129

^{13}C y NOE selectivo) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC) en la NMR. Toda la información concordó con la estructura teórica de la sal que aparece abajo. La molécula existe en dos conformaciones en metanol. Con base 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 fue de 65:35. No se pudo observar H22 puesto que estos protones se encontraban en un rápido intercambio con el solvente CD_3OD .



Las resonancias tanto del protón como del carbono correspondiendo a la posición 1 se fraccionan debido al acople en espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acople son $^2J_{\text{HF}}=74\text{ Hz}$ y $^1J_{\text{CF}}=260\text{ Hz}$.

La asignación del desplazamiento químico y las correlaciones protón - protón de ^1H y ^{13}C en la NMR aparecen en la Tabla 6.

Tabla 6

Atomo No.	Tipo	^{13}C despla/ ppm ^a	^1H despla/ppm ^b y multiplicidad ^c	J_{HH}/Hz
1	CH	117.5 ^e	6.89 (t)	74 ($^2J_{\text{HF}}$)
1'		117.5 ^e	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		
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

13D
131

16	CH ₂	43.5	4.59 (AB-patrón)	16.0 y 6.6
16'		43.6	4.45 (AB-patrón)	16.0 y 5.3
			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 se observó	
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 solvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del solvente 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 acople con los dos núcleos del flúor.

¹J_{CF}=260 Hz.

HRMS calculado para C₂₅H₃₁ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 619.1441, se encontró 619.1436.

Los cristales del Compuesto A, sal de ácido *n*-propanosulfónico (obtenidos mediante uno o varios de los Ejemplos 15 a 16 arriba) por medio de XRPD

132

y los resultados se tabulan abajo (Tabla 7) y aparecen en la Figura 3.

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

732
133

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
2.32	2	vw
2.14	3	vw
2.01	2	vw

DSC mostró una endoterma con temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de *ca.* 135°C. TGA no mostró una reducción en masa alrededor del punto de fusión.

Método 17

Método 17-A: Preparación de Compuesto A amorfo sal de ácido n-butano sulfónico

Se disolvió Compuesto A amorfo (277 mg) en IPA (1.77- ml) y se agregó ácido butano sulfónico (aprox. 1 eq. 70 µL). Se agregó acetato de etilo (6 ml) y el solvente se evaporó hasta que secara y se formó un sólido amorfo.

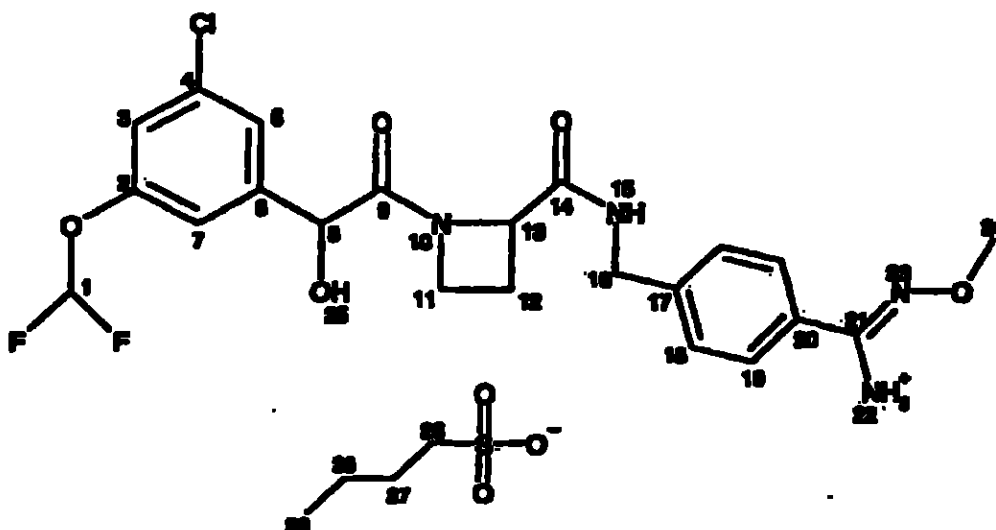
Método 17-B: Preparación de Compuesto A cristalino sal de ácido n-butano

33
134sulfónico

Se suspendió Compuesto A amorfo sal de ácido butano sulfónico (71.5 mg; consultar preparación arriba) en acetato de etilo (500 pi) durante la noche. Los cristales se retiraron por filtración y se secaron al aire.

El Compuesto A, sal de ácido butano sulfónico se caracterizó por medio de una NMR como sigue: se disolvió 21.6 mg de la sal en dimetilsulfoxida deuterada (0.7 ml) y se investigó con espectroscopia de ^1H y ^{13}C en la NMR.

El espectro es muy similar al de otras sales del mismo y concuerda con la estructura que aparece abajo. La mayoría de las resonancias del espectro se encuentran presentes como dos picos debido a la lenta rotación alrededor del enlace C9-N10 lo cual genera dos atropoisómeros que existen simultáneamente en la solución. Esto aparece para otras sales del mismo compuesto.



Los dos núcleos de flúor en la posición 1 producen una resonancia fraccionada para el protón y el carbono en esa posición. Las constantes de acople son $^2J_{\text{HF}}=73\text{ Hz}$ y $^1J_{\text{CF}}=258\text{ Hz}$.

Los desplazamientos químicos de los protones y los carbonos aparecen en la Tabla 1. Los protones en la posición 22 y 24 no se detectan debido al intercambio químico. Hay un gran salto entre 8 y 9 ppm en el espectro del protón que corresponde a estos protones.

134
135

Tabla 8

Asignación del desplazamiento químico de ^1H y ^{13}C en la NMR del
Compuesto A, sal n-butanosulfonato en dimetilsulfoxida deuterado a 25°C

Átomo No.	Tipo	^{13}C despla/ ppm ^a	^1H despla/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
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

135
136

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 solvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del solvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, d=doblete, dd=doble doblete, t=triplete, m=multiplete.

^dLa resonancia es un triplete debido al acople con los dos núcleos del flúor

F1. ¹J_{CF}=258 Hz.

^eEl acople ⁴J_{HH} con los *meta*-protones no está completamente resuelto.

na=no aplica, nd=no determinado

HRMS calculado para C₂₆H₃₂ClF₂N₄O₈S (M-H)⁻ 633.1597, se encontró 633.1600

Se analizaron los cristales del Compuesto A, sal de ácido n-butanossulfónico (obtenidos como se describe en el Método 17B) por medio de XRPD y los resultados se tabulan abajo (Tabla 9) y aparecen en la Figura 4.

Tabla 9

Valor d (Å)	Intensidad (%)	Intensidad
143	8	m
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

73b
137

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

37
138

2.31	3	vw
------	---	----

DSC mostró una endoterma con 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 1: Método General para la Preparación de Sales

Se empleó el siguiente método genérico para preparar las sales del Compuesto B: 200 mg del Compuesto B (consultar la preparación B arriba) se disolvió en 5 de MIBK. A esta solución se le agregó una solución del ácido correspondiente (1.0 o 0.5 equivalente molar, como se indica en la Tabla 10) disuelta en 1.0 de MIBK. Después de revolver durante 10 minutos a temperatura ambiente, se extrajo el solvente por medio de un evaporador rotatorio. El resto del material sólido se volvió a disolver en alrededor de 8 de acetonitrilo:H₂O (1:1). El secado por congelamiento produjo un material amorfo en cada caso.

Ácidos empleados

Esilato (ácido etanosulfónico)

Besilato (ácido benceno sulfónico)

Ciclohexilsulfamato

Sulfato

Bromuro

p-Toluenosulfonato

2-Naftalenosulfonato

Hemisulfato

Metanosulfonato

Nitrato

Clorhidrato

En la Tabla 10 aparecen los datos característicos.

123
139

Tabla 10

Sal	Pm ácido	Pm 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
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 que se formaron en este ejemplo fueron amorfas.

f3¹
140**Método 18-B**

Se prepararon otras sales amorfas del Compuesto B empleando unas técnicas análogas a aquellas descritas en el Método 18-A arriba para los siguientes ácidos:

1,2-Etanodisulfónico (0.5 sal)

1S-Alcanforsulfónico

(+/-)-Alcanforsulfónico

p-Xilenosulfónico

2-Mesitilenosulfónico

Sacarino

Maleico

Fosfórico

D-glutámico

L-arginina

L-lisina

L-lisina * HCl

Método 18-C: Preparación Compuesto B amorfo, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico Se disolvió Compuesto B amorfo (110.9 mg) en 2.5 de 2-propanol y se agregó 0.5 equivalente de 1,5- ácido naftalen-disulfónico tetrahidrato (disuelto en 1 de 2-propanol). La muestra se revolvió durante la noche. Únicamente bajo el microscopio se observaron unas partículas pequeñas (amorfas) o unas gotas de aceite. La muestra se evaporó hasta quedar seca.

Método 18-D: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5- naftalenodisulfónico

El experimento de cristalización se llevó a cabo a temperatura ambiente. Se disolvió Compuesto B amorfo (0.4 gram) en etanol (1.5 mL) y se agregó 0.5 eq de 1,5- ácido naftaleno - disulfónico tetrahidrato (135 gram, 10 % en

Handwritten signature and the number 141.

etanol). Luego se añadió heptano (0.7 mL) hasta que la solución se volvió ligeramente turbia. Después de unos 15 minutos la solución se tornó turbia. Después de unos 30 minutos, se obtuvo una suspensión delgada y se agregó más heptano (1.3 mL). Luego la lechada se dejó durante la noche para su maduración. Se agregó una mezcla de etanol y heptano (1.5 y 1.0 respectivamente) para diluir la suspensión espesa. Después de 1 hora más o menos, la lechada se filtró 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 B cristalino, sal de ácido hemi-1,5- naftalenodisulfónico

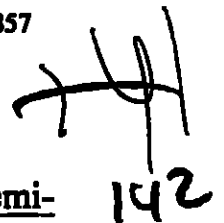
Se disolvió Compuesto B amorfo (1.009 gr) en 20 de 2-propanol + 20 de acetato de etilo. Se agregó 351.7 mg de 1,5- ácido naftaleno-disulfónico tetrahidrato, disuelto en 20 de 2-propanol, por goteo. Se precipitó en unos 5 minutos. La lechada se revolvió durante la noche y luego se filtró.

Método 18-F: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5- naftalenodisulfónico

Se disolvió 430.7 mg de la sal de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico en 30 de 1-propanol. La solución se calentó hasta ebullición con el fin de disolver la sustancia. La solución se dejó durante la noche a temperatura ambiente para la cristalización y luego los cristales se retiraron por filtración.

Método 18-G: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5- naftalenodisulfónico

El líquido original del Método 18-F se evaporó y el sólido restante (61.2 mg) se disolvió en 6 de acetonitrilo/1-propanol, a una proporción de 2:1. La solución se dejó durante la noche a temperatura ambiente para que se cristalizara y luego los cristales se retiraron por filtración.



Método 18-H: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

La muestra del Método 18-C se disolvió en alrededor de 2 de metanol. Se agregó etanol (alrededor de 3 mL) como un anti-solvente a temperatura ambiente y se agregaron semillas. No hubo cristalización así que los solventes se evaporaron (alrededor de la mitad de la cantidad) y se añadió una nueva porción de etanol (alrededor de 2 mL) y semillas. Se formaron partículas cristalinas cuando se revolvió a temperatura ambiente durante la noche.

Método 18-I: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

Se disolvió Compuesto B (104.1 mg) amorfo en 2-propanol y se agregó 1 equivalente de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico tetrahidrato, disuelto en 2-propanol, en total la cantidad de 2-propanol fue de alrededor de 2.5 mL. La solución se revolvió a 44°C durante unos 80 minutos y se formó un precipitado. Las partículas fueron cristalinas de acuerdo con una microscopia de luz polarizada. La muestra se filtró.

Método 18-J: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

Se disolvió Compuesto B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico (56.4 mg) en 1.5 de metanol. Se agregó metil etil cetona (3 mL). Se agregaron semillas a la solución y comenzó la cristalización. Los cristales se retiraron por filtración, se lavaron con metil etil cetona y se secaron al aire.

Método 18-K: Preparación de Compuesto B cristalino, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico

Se disolvió Compuesto B amorfo (161,0 mg) en 3.5 de 1-Butanol y la solución se calentó a 40°C. En otro matraz se disolvió 57.4 mg de ácido naftaleno-disulfónico tetrahidrato en 3 de 1-Butanol. Se agregaron un par de gotas de la solución ácida a la solución del Compuesto B. Luego se

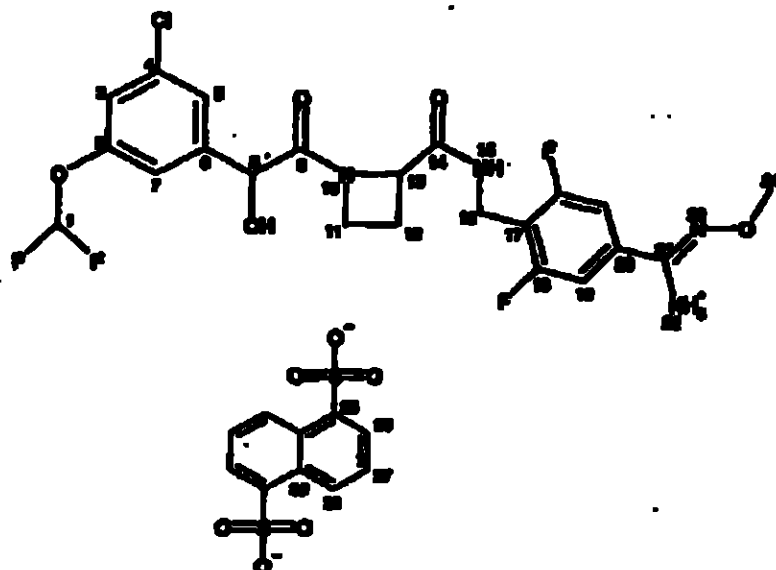
A12
143

añadieron semillas a la solución y después de 2 horas se agregó el resto de la solución ácida (a 40°C) lentamente. Luego se redujo la temperatura lentamente hasta alcanzar la temperatura ambiente y se dejó el experimento bajo agitación durante la noche. La lechada se filtró, se lavó con 1-Butanol y se secó al vacío a 44°C durante 2 horas. El rendimiento fue de 83%.

Caracterización

Los cristales del Compuesto B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico, obtenidos mediante el Método 18-D arriba, se caracterizaron por medio de una NMR como sigue: se disolvió 21.3 mg de la sal en metanol deuterado, 0.7 ml, se investigó con una espectroscopia en NMR. Se empleó una combinación de experimentos 1D (^1H , ^{13}C y NOE selectivos) y 2D (gCOSY, gHSQC y gHMBC) por medio de una NMR.

Toda la información concordó con la estructura propuesta que aparece abajo. Todos los carbonos y los protones adheridos a los carbonos se encuentran asignados. Los protones adheridos a los heteroátomos se intercambian por deuterio del solvente y no se detectan. La mayoría de las resonancias en 1D ^1H y ^{13}C en el espectro de la NMR se encuentran presentes como conjuntos de dos picos. Esto se debe a la lenta rotación alrededor del enlace C9-N10, generando dos atropoisómeros que existen en forma simultánea en la solución. El experimento 1D NOE es evidencia de lo anterior. Cuando se irradia la resonancia de un atropoisómero, la saturación se transfiere al pico correspondiente del otro atropoisómero. Las resonancias que corresponden al ión de conteo de 1,5-naftalenodisulfonato no muestran atropisomerismo.

113
144

La molécula tiene cuatro átomos de flúor. Estas producen resonancias fraccionadas para algunos protones y carbonos. Las resonancias tanto del protón como del carbono correspondiendo a la posición 1 se fraccionan debido al acople en espines con los dos núcleos de flúor en esa posición. Las constantes de acople son $^2J_{\text{HF}}=73$ Hz y $^1J_{\text{CF}}=263$ Hz. Además la resonancia del protón correspondiendo a H19 es un doblete distorsionado con $^3J_{\text{HF}}=6.9$ Hz a causa del acople en espines con el núcleo del flúor en la posición 18. Las resonancias de carbono correspondiendo a C17, C18, C19 y C20 también muestran acoples 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 acople $^1J_{\text{CF}}=251$ Hz y $^3J_{\text{CF}}=8$ Hz. La resonancia C19 es un multiplete.

Comparando la magnitud de las integrales de las resonancias que corresponden al ión de conteo 1,5-naftalenodisulfonato y el compuesto original se conoce la relación de estequiometría de un solo ión de conteo 1,5-naftalenodisulfonato cristalizado con dos moléculas del compuesto original.

La asignación del desplazamiento químico y las correlaciones protón - protón de ^1H y ^{13}C en la NMR aparecen en la Tabla 11.

143
145

Tabla 11

Atomo No.	Tipo	¹³ C despla/ppm ^a	¹ H despla/ppm ^b y multiplicidad ^c	J _{HH} /Hz	Por correlación de enlace ¹ H ^d
1	CHF	117.5 ^e	6.91 (t)	73 (² J _{HF})	nd
1'	2	117.5 ^e	6.87 (t)	73 (² J _{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
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	12'

146

				9.1	
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*	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 solvente a 49.0 ppm.

^bRelativo a la resonancia del solvente a 3.30 ppm.

^cs=singlete, d=doblete, dd=doblete de dobletes, t=triplete, m=multiplete.

^dObtenido en el experimento gCOSY

^eLa resonancia es un triplete debido al acople con los dos núcleos del flúor.

^fJ_{CF}=263 Hz.

^gLa resonancia es un triplete debido al acople con los dos núcleos del flúor F18.

^hJ_{CF}=19 Hz.

ⁱLa resonancia es un doblete de dobletes debido al acople con los dos núcleos del flúor F18.

^jJ_{CF}=251 Hz y ^kJ_{CF}=8 Hz.

Handwritten signature and the number 147.

ⁱLa resonancia es un multiplete debido al acople de los dos núcleos de flúor F18.

^kLa resonancia es un triplete debido al acople de los dos núcleos de flúor F18. ³J_{CF}=11 Hz.

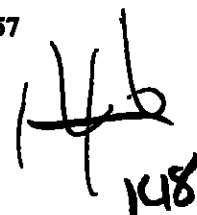
ⁿEl acople ⁴J_{HH} con los meta-protones no está totalmente resuelto.

na=no aplica, nd=no determinado

Los cristales del Compuesto B, sal de ácido hemi-1,5-naftalenodisulfónico (obtenidos mediante el Método 18-I arriba, se analizaron por medio de una XRPD y los resultados se tabulan abajo (Tabla 12) y aparecen en la 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
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 temperatura extrapolada de iniciación de la fusión de ca 183 °C y TGA mostró una pérdida de peso de 03 % entre 25-110 °C.

Abreviaturas

Ac	= acetilo
APCI	= presión atmosférica ionización química (en relación a MS)
API	= presión atmosférica ionización (en relación a MS)
aq.	= acuoso
Aze(&(S)-Aze)	= (S)-azetidina-2-carboxilato (salvo si se especifica en contrario)
Boc	= <i>tert</i> -butiloxicarbonilo
br	= amplio (en relación a NMR)
CI	= ionización química (en relación a MS)
d	= día(s)
d	= doblete (en relación a NMR)
DCC	= dicitclohexil carbodiimida
dd	= doblete de dobletes (en relación a NMR)
DIBAL-H	= di-isobutilaluminio hidrido
DIPEA	= diisopropiletilamino
DMAP	= 4-(<i>N,N</i> -dimetil amino) piridina
DMF	= <i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	= dimetilsulfoxida
DSC	= calorimetría diferencial de barrido
DVT	= Trombosis de vena profunda
EDC	= 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida clorhidrato
eq.	= equivalentes
ES	= electrorociado



ESI	= Interface electrorociado
Et	= etil
éter	= dietil éter
EtOAc	= acetato de etilo
EtOH	= etanol
Et ₂ O	= dietil éter
HATU	= <i>O</i> -(azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> - tetrametiluronio hexafluorofosfato
HBTU	= [<i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -benzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato]
HCl	= ácido clorhídrico, hidrógeno gas cloruro o sal de clorhidrato (dependiendo del contexto)
Hex	= hexanos
HOAc	= ácido acético
HPLC	= cromatografía líquida de alto rendimiento
LC	= Cromatografía líquida
m	= multiplete (en relación a NMR)
Me	= metil
MeOH	= metanol
min.	= minuto(s)
MS	= espectroscopia de masa
MTBE	= metil <i>tert</i> -butil éter
NMR	= resonancia magnética nuclear
OAc	= acetato
Pab	= <i>para</i> -amidinobenzilamino
H-Pab	= <i>para</i> -amidinobenzilamina
Pd/C	= paladio en carbono
Ph	= fenil
PyBOP	= (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio hexafluorofosfato
q	= cuarteto (en relación a NMR)
QF	= fluoruro de tetrabutilamonio
rt/RT	= temperatura ambiente
s	= singlete (en relación a NMR)
solitol	= PEG 660 12-hidroxi estearato (un tensioactivo no iónico)
t	= triplete (en relación a NMR)



TBTU	= [N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio tetrafluoroborato]
TEA	= trietilamina
Teoc	= 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo
TEMPO	= radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi
TFA	= ácido trifluoroacético
TGA	= análisis termogravimétrico
THF	= tetrahidrofurano
TLC	= cromatografía en capa delgada
UV	= ultravioleta

Los prefijos *n*-, *s*-, *i*-, *t*- y *tert*- tienen su significado usual: normal, secundario, *iso*, y terciario.

La invención se ilustra a modo de los siguientes Ejemplos.

Ejemplo 1

Compuesto A	30 µmol
PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. Esta composición se suministró a unos perros por vía oral mediante sonda gástrica una vez al día durante 5 días. La dosis de 150 µmol/kg produjo unas concentraciones máximas en plasma en el rango de 118-254 µM (118-254 µmol/L) después de la primera dosis y de 186-286 µM (186-286 µmol/L) después de la quinta dosis.

Ejemplo 2

Compuesto A	40 µmol
PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) % seguida de una agitación suave.

Esta composición se suministró a unas ratas por vía oral mediante sonda gástrica una vez al día durante 5 días. La dosis de 400 $\mu\text{mol/kg}$ produjo unas concentraciones máximas en plasma en el rango de 3.17-6.91 μM (3.17-6.91 $\mu\text{mol/L}$) después de la primera dosis y de 3.01-10.5 μM (3.01-10.5 $\mu\text{mol/L}$) después de la quinta dosis.

Ejemplo 3

Compuesto A	80 μmol
PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. Esta composición se suministró a unas ratas por vía oral mediante sonda gástrica una vez al día durante 5 días. La dosis de 800 $\mu\text{mol/kg}$ produjo unas concentraciones máximas en plasma en el rango de 7.00-23.9 μM (7.00-23.9 $\mu\text{mol/L}$) después de la primera dosis y de 10.3-32.8 μM (10.3-32.8 $\mu\text{mol/L}$) después de la quinta dosis.

Ejemplo 4

Compuesto A	250 μmol
PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 1000 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 5

Compuesto A	21 μmol
PEG 400/etanol/agua 20/10/70 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en



PEG 400/etanol/agua 20/10/70 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 100 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 6

Compuesto A	51 μ mol
PEG 400/etanol/agua 20/10/70 (peso/peso) %	a 1 mL

El agua contenía 50 μ mol/de ácido tartárico.

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG acidificado 400/etanol/agua 20/10/70 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución fue 3.6. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 250 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 7

Compuesto A	44 μ mol
PEG 400/etanol/agua 30/5/65 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 30/5/65 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 200 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 8

Compuesto A	88 μ mol
PEG 400/etanol/agua 30/5/65 (peso/peso) %	a 1 mL
El agua contenía 5 μ mol/de ácido tartárico	
HCl en un pH 3.6	q.s.

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en

PEG acidificado 400/etanol/agua 30/5/65 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución se fijó en 3.6 por medio de la adición de HCl. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 400 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 9

Compuesto A	120 μ mol
PEG 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 600 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 10

Compuesto A	198 μ mol
PEG 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) %	a 1 mL
El agua contenía 50 μ mol/de ácido tartárico	
HCl en un pH 3.8	q.s.

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG acidificado 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución se fijó en 3.8 mediante la adición de HCl. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 1000 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola. Las formulaciones del Compuesto A en este excipiente son estables por lo menos por 3 meses a < - 15°C.

Ejemplo 11

Compuesto A	136
	μ mol
Hidroxipropil- β -ciclodextrina/agua 40/60 (peso/peso) %	a 1 mL
HCl en un pH 3.6	q.s.

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en Hidroxipropil- β - ciclodextrina/agua 40/60 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución se fijó en 4.7 mediante la adición de HCl. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 700 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 12

Compuesto A	76 μ mol
Hidroxipropil- β -ciclodextrina/agua 28/72 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en Hidroxipropil- β -ciclodextrina/agua 28/72 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 400 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 13

Compuesto A	40 μ mol
PEG 400/etanol/solutol TM /agua 50/5/5/40 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/solutolTM/agua 50/5/5/40 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 80 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 14

Compuesto A	40 μ mol
PEG 400/agua 40/60 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400 seguida de una agitación suave durante por lo menos 1 hora, y posteriormente se agregó agua al volumen final. La solubilidad del

Compuesto A es por lo menos 200 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 15

Compuesto A	52 μ mol
PEG 400/agua 35/65 (peso/peso) %	a 1 mL
El agua contenía 50 μ mol/de ácido tartárico	

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400 seguida de una agitación suave durante por lo menos 1 hora, posteriormente se agregó agua al volumen final. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 250 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 16

Compuesto A	58 μ mol
PEG 400/agua 50/50 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400 seguida de una agitación suave durante por lo menos 1 hora, posteriormente se agregó agua al volumen final. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 300 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 17

Compuesto A	88 μ mol
PEG 400/agua 67/33 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400 seguida de una agitación suave durante por lo menos 1 hora, posteriormente se agregó agua al volumen final. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 400 veces mayor en este excipiente cuando se

compara con el agua sola.

Ejemplo 18

Compuesto A	92 μ mol
PEG 400/etanol/agua 45/1/54 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 45/1/54 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 450 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 19

Compuesto A	159 μ mol
PEG 400/etanol/agua 45/1/54 (peso/peso) %	a 1 mL
El agua contenía 50 μ mol/de ácido tartárico	
HCl en un pH 4.2	q.s.

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG acidificado 400/etanol/agua 45/1/54 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución se fijó en 4.2 con HCl. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 800 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 20

Compuesto A	101 μ mol
PEG 400/etanol/agua 45/2/53 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 45/2/53 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 500 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 21

Compuesto A	167 μ mol
PEG 400/etanol/agua 45/2/53 (peso/peso) %	a 1 mL
El agua contenía 50 μ mol/de ácido tartárico	
HCl en un pH 4.3	q.s.

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG acidificado 400/etanol/agua 45/2/53 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución se fijó en 4.3 mediante la adición de HCl. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 800 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 22

Compuesto A	46 μ mol
DMA/agua 50/50 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en el excipiente seguida de una agitación suave durante por lo menos 1 hora. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 230 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 23

Compuesto A	29 μ mol
DMA/agua 25/75 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en el excipiente seguida de una agitación suave durante por lo menos 1 hora. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 150 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 24

Compuesto A	5 μ mol
-------------	-------------

HCl	10 μ mol
Agua	a 1 mL
HCl/NaOH en un pH 3.6	q.s



Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en un volumen inferior al doble de la cantidad equimolar de HCl seguida de una agitación suave y se diluyó a 1mL. El pH de la solución final se ajustó en 3.6. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 20 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 25

Compuesto A	10 μ mol
Agua	a 1 mL
HCl en un PH 1.0	q.s
NaOH en un pH 3.0	q.s

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A. Se agregó agua y HCl para obtener un pH de 1 y posteriormente la solución se revolvió suavemente. El pH de la solución final se ajustó en 3.0 con NaOH. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 40 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola. Esta formulación se administró a unas ratas p.o en un estudio cinético comparativo.

Ejemplo 26

Compuesto A	100 μ mol
Migliol	0.25 g/g Compuesto A
DMA	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en 1 de DMA/migliol seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 4000 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

HC1

Ejemplo 27

Compuesto A	100 μ mol
Migliol	0.25 g/g Compuesto A
Etanol	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en 1 de Etanol/Migliol seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 4000 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 28

Compuesto A	130 μ mol
Etanol	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en 1 de etanol seguida de una agitación suave. La sustancia es estable en esta formulación por más de una semana.

Ejemplo 29

Con el fin de preparar unas nanopartículas, se utilizó una solución matriz del Compuesto A de alrededor de 100 mM en etanol. También se incluyó 25% (peso/peso) de Migliol, calculado sobre la cantidad de la sustancia. Las soluciones se diluyeron 1/10 con la solución estabilizadora, que consiste en 0.2% (peso/peso) de PVP y 0.25 mM de SDS en agua. La agitación, considerada como un parámetro crítico durante la preparación de nanopartículas, fue rápida e instantánea. La solución del fármaco se inyectó rápidamente a la solución estabilizadora cuando se sometió a ultrasonido. Después de la dilución 1/10 en la solución acuosa, se obtuvieron nanopartículas de alrededor de 150 nm. Después de 6 horas a temperatura ambiente, el tamaño de las partículas permanecía igual.

251

Ejemplo 30

Compuesto A	4 μ mol
Solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solución se administró en forma oral a unas ratas y la concentración en plasma del Compuesto D fue de 0.56 μ mol/L después de 1 hora. La solución se administró en forma subcutánea a unas ratas y las concentraciones en plasma del Compuesto D y A fueron 0.24 μ mol/L y 0.6 μ mol/L, respectivamente, después de 1 hora.

Ejemplo 31

Compuesto B	4 μ mol
Solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto B en solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solución se suministró en forma oral a unas ratas y las concentraciones en plasma del Compuesto B y del Compuesto E fueron respectivamente 0.07 μ mol/L y 0.65 μ mol/L, después de 1 hora. La solución se administró en forma subcutánea a unas ratas y las concentraciones en plasma del Compuesto B y del Compuesto E fueron 0.4 μ mol/L y 0.3 μ mol/L, respectivamente, después de 1 hora.

Ejemplo 32

Compuesto C	4 μ mol
Solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto C en solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solución se suministró en forma oral a unas ratas y las

concentraciones en plasma de los Compuestos C y F fueron respectivamente 0.2 $\mu\text{mol/L}$ y 0.5 $\mu\text{mol/L}$ después de 1 hora. La solución se administró en forma subcutánea a unas ratas y las concentraciones en plasma de los Compuestos C y F fueron 0.35 $\mu\text{mol/L}$ y 0.5 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente, después de 1 hora.

Ejemplo 33

Compuesto D (sal de trifluoroacetato)	5 μmol
Solución salina 9 mg/ml	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto D en 1 de solución salina seguida de una agitación suave.

Ejemplo 34

Compuesto D (sal de trifluoroacetato)	75 μmol
EtOH	0.05 mL
Solución salina (9 mg/ml)	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto D en 1 de solución de solución salina/etanol seguida de una agitación suave.

Ejemplo 35

Compuesto D (sal de trifluoroacetato)	4 μmol
EtOH	0.02 mL
Solución salina	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto D en 1 de solución de solución salina/etanol seguida de una agitación suave. La solución se administró en forma subcutánea a unas ratas y la concentración en plasma del Compuesto E fue 0.75 $\mu\text{mol/L}$ después de 1 hora.

Ejemplo 36

Compuesto E (sal de acetato)	4 μ mol
EtOH	0.02 mL
Solución salina	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto E en 1 de solución de solución salina/etanol seguida de una agitación suave. La solución se administró en forma subcutánea a unas ratas y la concentración en plasma del Compuesto E fue 0.75 μ mol/L después de 1 hora.

Ejemplo 37

Compuesto F (sal de trifluoroacetato)	4 μ mol
EtOH	0.02 mL
Solución salina	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto F en 1 de solución de solución salina/etanol seguida de una agitación suave. La solución se administró en forma subcutánea a unas ratas y la concentración en plasma del Compuesto F fue 0.92 μ mol/L después de 1 hora.

Ejemplo 38

Compuesto E (sal de acetato)	22 mg
Solución salina 9 mg/ml	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto E en 1 de solución salina seguida de una agitación suave.

Ejemplo 39

Compuesto F (sal de trifluoroacetato)	22 mg
Solución salina 9 mg/ml	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución de la sal del Compuesto F en 1 de solución salina seguida de una agitación suave.

Ejemplo 40

Compuesto A (como sal de esilato)	14 mg
Agua	a 1 mL

Se preparó una solución mediante la disolución de un exceso del Compuesto A como sal de esilato en 3 de agua seguida de una agitación suave durante la noche. Se monitoreó una concentración final de la solución después de la filtración a 14 mg/a un pH de 2.7.

Ejemplo 41

Compuesto A (como sal de esilato)	33 mg
Solución amortiguadora de fosfato sódico pH=3.1 I=0.1	a 1 mL

Se preparó una solución mediante la disolución de 112 mg del Compuesto A como sal de esilato en 3 de solución amortiguadora de fosfato sódico seguida de una agitación suave durante la noche. Se monitoreó una concentración final de la solución después de la filtración a 33 mg/a un pH de 2.7.

Ejemplo 42

Compuesto A (como sal de esilato)	1.6 mg
Solución amortiguadora de fosfato sódico pH=6.9 I=0.1	a 1 mL

Se preparó una solución mediante la disolución de 20 mg del Compuesto A como sal de esilato en 3 de solución amortiguadora de fosfato sódico seguida de una agitación suave durante la noche. Se monitoreó una concentración final de la solución después de la filtración a 1.6 mg/a un pH de 6.5.

Ejemplo 43

Las siguientes formulaciones secadas por congelamiento se pueden preparar de conformidad con las técnicas descritas en uno o varios de los Ejemplos 1-29 arriba:

a.

Compuesto A	10 μ mol
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

b.

Compuesto D	10 μ mol
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

c.

Compuesto E	10 μ mol
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

d.

Compuesto F	10 μ mol
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

3
18

e.

Compuesto B	10 μ mol
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

f.

Compuesto C	10 μ mol
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

g.

Compuesto A (como sal de esilato)	14 mg
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

h.

Compuesto A (como sal de besilato)	14 mg
Manitol	10 mg
Agua	a 1 mL
HCl en un pH 1.0	q.s.
NaOH en un pH 3.0	q.s.

Opcionalmente las soluciones se filtraron en forma estéril, por ejemplo por medio de una membrana de filtrado de 0.22 μ m. Las soluciones (estériles u otras) se vaciaron en los recipientes apropiados (por ejemplo frascos) y las

formulaciones se secaron por congelamiento empleando unos equipos estándar. Los frascos se pueden sellar en un equipo de secado por congelamiento bajo una atmósfera de nitrógeno.

Ejemplo 44

	Peso	Cantidad
Compuesto A	48 mg	17%
Polivinil pirrolidona K90	8 mg	3%
Manitol	21 mg	7%
Celulosa microcristalina	187 mg	65%
Glicolato de almidón sódico	21 mg	7%
Fumarato esterarilo sódico	3 mg	1%

Los excipientes y el fármaco se mezclaron y granularon con polivinil pirrolidona K90 disuelto en agua. Luego los gránulos se secaron en un horno de secado. El granulado se lubricó con fumarato esterarilo sódico y se comprimió para formar tabletas empleando una *excenterpress*.

Se efectuaron pruebas con tres tabletas diferentes para verificar la liberación del fármaco en un medio de 900 utilizando un aparato de disolución USP 2 (paleta+canasta¹) a 50 rpm y 37°C. El medio de disolución empleado fue 0.1 M de ácido clorhídrico (pH 1) y 0.1 M de solución amortiguadora de fosfato sódico (pH 6.8). Se efectuó una cuantificación en línea utilizando el sistema de fibra óptica de C Technologies con 220 nm como la longitud de onda analítica cuando se empleó 0.1 M HCl como el medio de disolución y con 260 nm como la longitud de onda analítica cuando se empleó la solución amortiguadora de fosfato pH 6.8 como el medio de disolución. Se empleó la longitud de onda de 350 nm como referencia para 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. Los resultados se presentan en la tabla abajo.

[¹ Una canasta personalizada en forma cuadrangular con una malla de



alambre soldada en uno de sus extremos angostos superiores al extremo de una vara de acero. La vara se lleva a través de la cubierta del recipiente de disolución y se fija mediante dos tuercas de teflón de 3.2 cm desde el centro del recipiente. El borde inferior del extremo inferior de la canasta se ajusta para ubicarlo a 1 cm por encima de la paleta. La canasta se dirige a lo largo del flujo de la corriente y la tableta que se está ensayando se encuentra en el borde].

Tiempo (min)	% liberación en solución amortiguadora pH 1.1	% liberación en solución amortiguadora pH 6.8
0	0	0
15	100	44
30	100	49
45	100	51
60	100	53
120	100	57
180	100	61
240	100	63
360	100	67
480	100	70
600	100	75
720	100	77
840	100	79
960	100	82
1080	100	83
1200	100	86

Ejemplo 45

	Peso	Cantidad
Sal de esilato del Compuesto A	58 mg	20%
Polivinil pirrolidona K90	8 mg	3%
Manitol	21 mg	7%
Celulosa microcristalina	177 mg	62%
Glicolato de almidón sódico	21 mg	7%
Fumarato esterarilo sódico	3 mg	1%

168
169

Los excipientes y el fármaco se mezclaron y granularon con polivinil pirrolidona K90 disuelto en agua. Luego los gránulos se secaron en un horno de secado. El granulado se lubricó con fumarato esterarilo sódico y se comprimió para formar tabletas empleando una *excenterpress*.

Ejemplo 46

	Peso	Cantidad
Compuesto B	48 mg	17%
Polivinil pirrolidona K90	8 mg	3%
Manitol	21 mg	7%
Celulosa microcristalina	187 mg	65%
Glicolato de almidón sódico	21 mg	7%
Fumarato esterarilo sódico	3 mg	1%

Los excipientes y el fármaco se mezclaron y granularon con polivinil pirrolidona K90 disuelto en agua. Luego los gránulos se secaron en un horno de secado. El granulado se lubricó con fumarato esterarilo sódico y se comprimió para formar tabletas empleando una *excenterpress*.

Ejemplo 47

	Peso	Cantidad
Compuesto C	48 mg	17%
Polivinil pirrolidona K90	8 mg	3%
Manitol	21 mg	7%
Celulosa microcristalina	187 rag	65%
Glicolato de almidón sódico	21 mg	7%
Fumarato esterarilo sódico	3 mg	1%

Los excipientes y el fármaco se mezclaron y granularon con polivinil pirrolidona K90 disuelto en agua. Luego los gránulos se secaron en un horno de secado. El granulado se lubricó con fumarato esterarilo sódico y se comprimió para formar tabletas empleando una *excenterpress*.

791

Ejemplo 48

Compuesto A	16 μ mol
PEG 414	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 414 acidificado seguida de una agitación suave.

Ejemplo 49

Compuesto A	16 μ mol
PEG 300	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 300 acidificado seguida de una agitación suave.

Ejemplo 50

Compuesto A	16 μ mol
PEG 200	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 200 acidificado seguida de una agitación suave.

Ejemplo 51

Compuesto G	4 μ mol
Solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto G en solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) % seguida de una agitación suave.

Ejemplo 52

Compuesto J	4 μ mol
Solución salina/etanol/solutol 90/5/5 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto J en solución salina/etanol/soluto 90/5/5 (peso/peso) % seguida de una agitación suave.

Ejemplo 53

Compuesto H **4 μmol**

Solución salina/etanol/soluto 1 90/5/5 (peso/peso) % a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto H en solución salina/etanol/soluto 90/5/5 (peso/peso) % seguida de una agitación suave.

Ejemplo 54

	Peso	Cantidad
Compuesto A sal de esilato	500 mg	66%
Polivinil pirrolidona K30	100 mg	13%
Celulosa microcristalina	100 mg	13%
Sodio enlazado en cruz CMC	50 mg	7%
Estearato de magnesio	5 mg	1%

La formulación se puede preparar de conformidad con el Ejemplo 47 arriba.

Ejemplo 55

	Peso	Cantidad
Compuesto A sal de ácido <i>n</i> -propanosulfónico	100 mg	23%
Polivinil pirrolidona K30	60mg	14%
Lactosa monohidrato	100 mg	23%
Celulosa microcristalina	150 mg	34%
Polivinil pirrolidona enlazada en cruz	20 mg	5%
Fumarato esterarilo sódico	10 mg	2%

161

La formulación se puede preparar de conformidad con el Ejemplo 47 arriba.

Ejemplo 56

	Peso	Cantidad
Compuesto A sal de besilato	20 mg	8%
Hidroxipropil celulosa	15 mg	6%
Celulosa microcristalina	200 mg	79%
Sodio enlazado en cruz CMC	15 mg	6%
Fumarato esterarilo sódico	3 mg	1%

La formulación se puede preparar de conformidad con el Ejemplo 47 arriba.

Ejemplo 57

Compuesto A 24 µmol
PEG 400/etanol/agua 25/10/65 (peso/peso) % a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 25/10/65 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 100 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola. La formulación es estable en un congelador por lo menos durante 2 meses.

Ejemplo 58

Compuesto A 800 µmol
PEG 400/etanol/agua 50/10/40 (peso/peso) % a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 50/10/40 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 2000 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

D
FEjemplo 59

Compuesto A	500 μ mol
Ácido cítrico	200 μ mol
HCl en un pH 3.6	q.s.
PEG 400/etanol/9 mg/NaCl 40/10/50 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 40/10/50 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 1500 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola.

Ejemplo 60

Compuesto A	24 μ mol
Ácido cítrico	5 μ mol
HCl en un pH 3.2	q.s.
Etanol/agua 12/88 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en etanol seguida de una agitación suave. Posteriormente se añadió ácido cítrico y agua al volumen final y el pH se fijó en 3.2. La solubilidad del Compuesto A es por lo menos 100 veces mayor en este excipiente cuando se compara con el agua sola. La formulación es estable en un congelador por lo menos durante 1 mes.

Ejemplo 61

Compuesto A	2 μ mol
Ácido cítrico	5 μ mol
HCl en un pH 3.6	q.s.
9 mg/de NaCl	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A y

ácido cítrico en solución salina fisiológica seguida de una agitación suave. El pH se fijó en 3.6. La formulación es estable en un congelador por lo menos durante 3 meses.

Ejemplo 62

Compuesto A (como sal de besilato)	140 μ mol
Ácido cítrico	5 μ mol
HCl en un pH 3.6	q.s.
PEG 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) % conteniendo ácido cítrico seguida de una agitación suave y fijando el pH en 3.6. La formulación es estable en un congelador por lo menos durante 1 mes.

Ejemplo 63

Compuesto A (como sal de besilato)	65 μ mol
Ácido cítrico	5 μ mol
HCl en un pH 3.3	q.s.
PEG 400/etanol/agua 20/5/75 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A en PEG 400/etanol/agua 20/5/75 (peso/peso) % conteniendo ácido cítrico seguida de una agitación suave y el pH se fijó en 3.2.

Ejemplo 64

Compuesto D (como sal de acetato)	25 μ mol
PEG 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) %	a 1 mL
Ácido tartárico: Componente A (sal de acetato de D) cantidad equimolar más un excedente de 5 mM	
HCl en un pH 3.6	q.s.

174


Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto D en PEG acidificado 400/etanol/agua 40/5/55 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. El pH de esta solución se fijó en 3.6 mediante la adición de HCl. Las formulaciones de D en este excipiente son estables por lo menos durante 2 meses a $<-15^{\circ}\text{C}$.

Ejemplo 65

Compuesto A	25 μmol
HPMC (15000 Cps)	5 mg
Solutol HS15	20 mg
Agua	a 1 mL

El HPMC se suspendió en agua caliente y se agregó Solutol derretido mientras se agitaba vigorosamente. Esta solución se enfrió y se añadió el Compuesto A mientras se agitaba vigorosamente para formar una suspensión muy bien dispersada.

Ejemplo 66

Compuesto A (como sal de besilato)	50 μmol
HPMC (15000 Cps)	5 mg
Solutol HS15	20 mg
Agua	a 1 mL

El HPMC se suspendió en agua caliente y se agregó Solutol derretido mientras se agitaba vigorosamente. Esta solución se enfrió y se añadió el Compuesto A (besilato) mientras se agitaba vigorosamente para formar una suspensión muy bien dispersada.

Ejemplo 67

Compuesto D (como sal de acetato)	2 μmol
Ácido cítrico	5 μmol
HCl en un pH 3.6	q.s.

9 mg/de NaCl

a 1 mL

3
X
/

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto A y ácido cítrico en solución salina fisiológica y se agitó suavemente. El pH se fijó en 3.6. La formulación es estable en un congelador por lo menos durante 3 meses.

Ejemplo 68

Con el fin de preparar unas nanopartículas, se utilizó una solución matriz del Compuesto B de alrededor de 100 mM en etanol. También se incluyó 25% (peso/peso) de Migliol, calculado sobre la cantidad de la sustancia. Las soluciones se diluyeron 1/10 con la solución estabilizadora, que consiste en 0.2% (peso/peso) de PVP y 0.25 mM de SDS en agua. La agitación, considerado un parámetro crítico durante la preparación de nanopartículas fue rápida e instantánea. La solución del fármaco se inyectó rápidamente a la solución estabilizadora cuando se sometió a ultrasonido. Después de la dilución 1/10 en la solución acuosa, se obtuvieron nanopartículas de alrededor de 110 nm. Después de 6 horas a temperatura ambiente, el tamaño de las partículas permanecía igual.

Opcionalmente se puede utilizar DMA en vez de etanol, el Migliol se puede excluir y la dilución puede ser mayor (1/20). Se pueden obtener partículas de un tamaño en el rango de 100 a 300 nm mediante diferentes combinaciones.

Ejemplo 69

Compuesto B

200 µmol

PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) %

a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto B en PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. Las formulaciones de B (a 0.5 mg/mL) en este excipiente son estables por lo menos durante 1 mes a < -15°C

176
Ejemplo 70

Compuesto B	230 μ mol
PEG 400/etanol/agua 60/5/35 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto B en PEG 400/etanol/60/5/35 (peso/peso) % seguida de una agitación suave.

Ejemplo 71

Compuesto B	50 μ mol
HPMC (15000 Cps)	5mg
Solutol HS15	20 mg
Agua	a 1 mL

El HPMC se suspendió en agua caliente y se agregó Solutol derretido mientras se agitaba vigorosamente. Esta solución se enfrió y se añadió el Compuesto B mientras se agitaba vigorosamente para formar una suspensión muy bien dispersada.

Ejemplo 72

Compuesto E (como sal de acetato)	39 μ mol
9 mg/de NaCl	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto E en 9 mg/de NaCl por medio de una agitación suave. El pH obtenido en esta formulación es 8-9.

Ejemplo 73

Compuesto C	400 μ mol
PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) %	a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto C en

PEG 400/etanol/agua 50/5/45 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. Las formulaciones de C (a 0.5 mg/mL) en este excipiente son estables por lo menos durante 1 mes a temperatura ambiente y menos.

Ejemplo 74

Compuesto C 16 µmol
Hidroxipropil-β-ciclodextrina/agua 20/80 (peso/peso) % a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto C en Hidroxipropil-β-ciclodextrina/agua 20/80 (peso/peso) % seguida de una agitación suave. Las formulaciones de C en este excipiente son estables por lo menos durante 2 semanas a < 8°C.

Ejemplo 75

Compuesto F (como sal de trifluoroacetato) 38 µmol
9 mg/mL de NaCl a 1 mL

Se preparó una formulación mediante la disolución del Compuesto F en 9 mg/de NaCl por medio de una agitación suave. El pH obtenido en esta formulación es 3-4. Las formulaciones de F en este excipiente son estables por lo menos durante 2 semanas a temperatura ambiente y menos.

Ejemplo 76

Se preparó una tableta de acuerdo con el método general del Ejemplo 44.

	Peso	Cantidad
Sal de besilato del Compuesto A	66 mg	17%
Polivinil pirrolidona K90	9 mg	2%
Manitol	29 mg	7%
Celulosa microcristalina	256 mg	65%
Glicolato de almidón sódico	29 mg	7%
Fumarato esterarilo sódico	4 mg	1%

Handwritten signature or mark.

Datos de Liberación

Medidos de acuerdo con el método general del Ejemplo 44 pero empleando 500de medio y 75 rpm.

Tiempo (min)	% liberado en solución amortiguadora pH 6.8
0	0
5	90
10	94
15	96
20	96
30	98
45	98
60	100

Ejemplo 77

Se preparó una tableta de acuerdo con el método general del Ejemplo 44.

	Peso	Cantidad
Sal de Besilato del Compuesto A	200 mg	40%
Polivinil pirrolidona K30	10 mg	2%
Lactosa	200 mg	40%
Celulosa microcristalina	70 mg	14%
Polivinilpolipirrolidona CL	15 mg	3%
Estearato de magnesio	5mg	1%

Se pueden preparar otras formulaciones donde la cantidad de sal de besilato del Compuesto A está en el rango de 50-300 mg; la proporción de los otros componentes es similar a aquella del Ejemplo 77.

Ejemplo 78

Se preparó una tableta de acuerdo con el método general del Ejemplo 44.

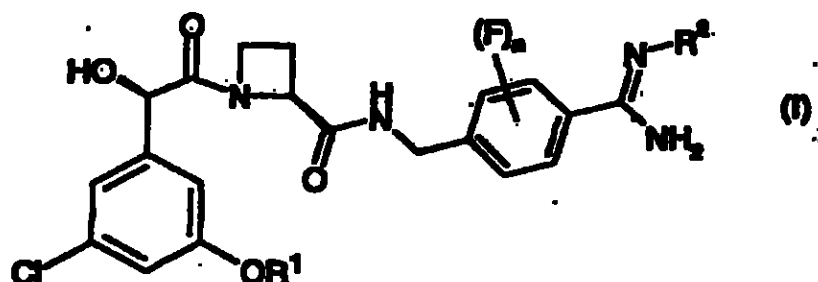
	Peso	Cantidad
--	------	----------

Sal de ácido hemi-naftaleno 1,5-disulfónico de Compuesto B	48 mg	17%
Polivinil pirrolidona K90	8 mg	3%
Manitol	21 mg	7%
Celulosa microcristalina	187 mg	65%
Glicolato de almidón sódico	21 mg	7%
Fumarato esterarilo sódico	3 mg	1%

También se pueden preparar otras formulaciones donde se utiliza 100mg o 200 mg de sal de ácido hemi-naftaleno 1,5-disulfónico del Compuesto B; la proporción de los otros componentes es similar a aquella del Ejemplo 78.

Se disponen unos aspectos particulares de la invención, como sigue:-

1. Una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de la fórmula (I):



donde

R^1 representa C_{1-2} alquilo sustituido por uno o varios radicales de fluoro;

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

n representa 0, 1 o 2;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable;

siempre que la formulación no contiene únicamente:

- una solución de un ingrediente activo y agua;
- una solución de un ingrediente activo y dimetilsulfoxida; o,
- una solución de un ingrediente activo en una mezcla de etanol: PEG 660 12-hidroxilo estearato: agua 5:5:90.

2. Una formulación farmacéutica de liberación inmediata como se



describe en el aspecto 1 donde el ingrediente activo es:

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

3. Una formulación farmacéutica sólida de liberación inmediata como se describe en el aspecto 1 donde el ingrediente activo es:
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);
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. Una formulación farmacéutica sólida de liberación inmediata como se describe en el aspecto 1 donde el ingrediente activo es Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe) o un C₁₋₆ ácido alcanosulfónico o una sal de ácido arilosulfónico opcionalmente sustituido del mismo.
5. Una formulación farmacéutica inyectable de liberación inmediata como se describe en el aspecto 1 donde el ingrediente activo es:
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF); o
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab.
6. El uso de una formulación como se describe en el aspecto 1 como un medicamento.

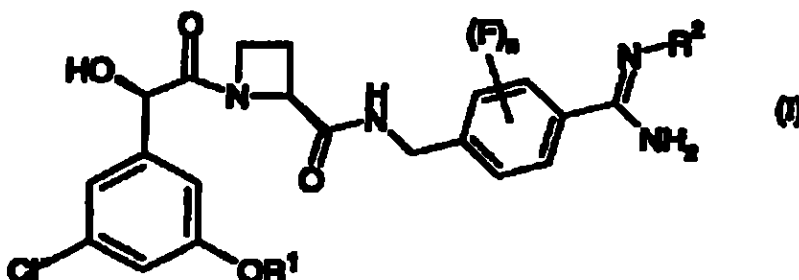
h
SC
1

7. El uso de una formulación como se describe en el aspecto 1 en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de un desorden cardiovascular.
8. Un método para tratar un desorden cardiovascular en un paciente que padece o tiene el riesgo de padecer el citado desorden que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación farmacéutica como se describe en el aspecto 1.
9. Un proceso para fabricar una formulación de liberación inmediata como se describe en el aspecto 1.
10. El compuesto $\text{pH}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF)OH}$.

También se dispone una formulación que se puede obtener por medio de cualesquiera de los Métodos y / o Ejemplos aquí descritos.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de la fórmula (I):



donde

R^1 representa C_{1-2} alquilo sustituido por uno o varios radicales de fluoro;

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

n representa 0, 1 o 2;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable;

siempre que la formulación no contiene únicamente:

- una solución de un ingrediente activo y agua;
- una solución de un ingrediente activo y dimetilsulfoxida; o,
- una solución de un ingrediente activo en una mezcla de etanol: PEG 660 12-hidroxi estearato: agua 5:5:90.

2. Una formulación farmacéutica de liberación inmediata como se reivindica en la reivindicación 1 que comprende una sal de adición de ácido de un compuesto de la fórmula (I) y un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

3. Una formulación farmacéutica de liberación inmediata como se reivindica en la reivindicación 1 o 2 donde el ingrediente activo es:

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

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

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

183

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

4. Una formulación como se reivindica en la reivindicación 1, 2 o 3 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).

5. Una formulación como se reivindica en cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde el ingrediente activo es un ácido etanosulfónico, un ácido *n*-propensulfónico, un ácido bencenosulfónico, un ácido 1,5-naftalenodisulfónico, o una sal de adición de ácido *n*-butanosulfónico de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(OMe); o

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

6. Una formulación como se reivindica en cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el ingrediente activo es Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab (OMe), sal de ácido bencenosulfónico, caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvos caracterizado por picos con valores *d* en 5.9, 4.73, 4.09 y 4.08 Å.

7. Una formulación como se reivindica en cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el ingrediente activo es Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 de polvos 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.

8. Una formulación como se reivindica en cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde la composición es una formulación farmacéutica sólida de liberación inmediata, una formulación farmacéutica inyectable de liberación inmediata o una formulación farmacéutica oral líquida de liberación inmediata.

9. El uso de una formulación como se reivindica en cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 8 como un medicamento.

10. El uso de una formulación como se reivindica en cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de un desorden cardiovascular.

11. Un método para tratar un desorden cardiovascular en un paciente que padece o tiene el riesgo de padecer el citado desorden que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación farmacéutica como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

PATENT COOPERATION TREATY

185 16B
3
4 OCT 2004From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

- 4 OCT 2004

To:			
Global Intellectual Property AstraZeneca AB 151 85 Södertälje	CODE	DATE	NTD
	ANKOM 01 OCT 2004		
		Date of mailing (day/month/year)	30-09-2004
Applicant's or agent's file ref. 100708-1 WO		IMPORTANT NOTIFICATION	
International application No. PCT/SE2003/000857		International filing date (day/month/year) 27-05-2003	Priority date (day/month/year) 31-05-2002
Applicant AstraZeneca AB et al			

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 5065 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. 08-987 72 44	Telex 17978 PATOREG-S	Authorized officer Christina Walt Telephone No. 08-782 25 00
--	-----------------------------	--

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."

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-10	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

The following documents were cited in the International Search Report:

D1: US 6034104 A
D2: WO 0013671 A1
D3: WO 0018352 A2
D4: WO 0214270 A1
D5: WO 0042059 A1
D6: WO 9927913 A1
D7: WO 9739770 A1

The problem the present application aims to solve is to provide an immediate 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 only three exceptions, every imaginable immediate release formulation comprising the compounds of formula (I). The claims actually formulate the problem, which the present invention aims to solve, rather than a solution to this problem. The examination relates to immediate release formulations comprising compounds of formula (I) in general. The opinion has however been focused on formulations similar to those exemplified in the application.

The description discloses a multitude of excipients that may be used in the formulations of the invention and provides examples of a large variety of formulations. In this way the application provides several completely different solutions to

.../...

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: BOX V

substances. From D1-D5 immediate release formulations comprising active agents similar to those of the present invention and with compositions similar to those of the examples of the present application are known. Considering what is known from D1-D5 and other prior art it is considered to lie within the skills of a person skilled in the art to prepare immediate release formulations comprising compounds of formula (I).

Compounds structurally similar to the active compounds of the invention are known from, for example, D4 and D5 for use as anticoagulant agents. 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.

The invention according to claims 1-10 is according to the reasoning above considered to lack inventive step. In order to prove that the subject matter of the application is inventive the formulation should be properly defined by its actual composition and limited to a single invention for which there is support in the description and an unexpected effect compared to similar compositions known in the art should be shown.

Thus, the claimed invention is considered to be novel and has industrial applicability but lacks inventive step.

D6 and D7 describe the general state of the art and have not been considered when establishing the opinion of this statement.

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 only three exceptions, every imaginable immediate release formulation comprising the compounds of formula (I). The claims do not explain in any way how such immediate release formulations may be achieved. The formulation is defined by a desirable characteristic, namely that it should give immediate release of the active ingredient, and not by its actual composition. The claims actually formulate the problem, which the present invention aims to solve, rather than a solution to this problem. Due to this the claims are not considered to fulfil the demands of clarity as stated in Article 6 PCT. The examination relates to immediate release formulations comprising compounds of formula (I) in general. The opinion has however been focused on formulations similar to those exemplified in the application.

The description discloses a multitude of excipients that may be used in the formulations of the invention and provides examples of a large variety of formulations. In this way the application provides several completely different solutions to the problem of providing an immediate release pharmaceutical formulation comprising a compound of formula (I). On the other hand the problem of preparing for example, a solution for injection is completely different from the problem of preparing for example a tablet for oral administration. The application can in this way be considered to provide solutions to several different problems.

According to Rule 13 PCT the application shall relate to one invention only or a group of inventions linked by a single general inventive concept. Independently of whether the application is considered to provide different solutions to the same problem or to solve different problems, such a general inventive concept linking all the different types of immediate release formulations, can not be found in the present application. The present application may therefore be considered to include several independent inventions. It is, however, impossible to define a number of specific invention. Again, different types of immediate release formulation have been examined although the opinion is focused on formulations similar to those presented in the examples.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

Remitente

OFICINA ENCARGADA DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

190
287

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)
(PCT Regla 71.1)**

Fecha de envío
(Día/Mes/Año)

30-09-2004

No. de Expediente del Solicitante o Apoderado

100708-1 WO

COMUNICACIÓN IMPORTANTE

No. de Solicitud Internacional

PCT/SE2003/000857

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 de las Oficinas Seleccionadas, la Oficina Internacional preparará una traducción del Informe (pero no de los anexos) al inglés y la remitirá a esas oficinas.

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 el recordatorio remitido 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 cada Oficina Seleccionada respectiva.

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 sobre el Artículo 33(5), el cual fija los criterios de novedad, actividad inventiva y aplicación industrial descritos en el Artículo 33(2) a (4) que sirven meramente para los efectos del examen preliminar internacional y que "cualquier Estado Contratante puede aplicar criterios adicionales o diferentes para efectos de decidir si en ese Estado, la invención reivindicada es patentable o no" (Consultar también Artículo 27(5)). Los citados 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 IPEA/ Patent- och registreringsverket Casilla 5055 S-102 42 STOCKHOLM Fax No. 08-667 72 88	Empleado Autorizado Christina Wall Teléfono No. 08-782 25 00
--	---

Formato PCT/IPEA/416 (Enero 2004)

191

121

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(Capítulo II del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes)

(Artículo 36 y Regla 70 PCT)

No. de Expediente del Solicitante o Apoderado 100708-1 WO	PROCEDIMIENTO POSTERIOR Consultar formato PCT/IPEA/416)	
No. Solicitud Internacional PCT/SE 2003/000857	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 31/397, A61P 9/00		
Solicitante AstraZeneca AB y Colaboradores		

- Este Informe de examen preliminar internacional fue elaborado por esta Oficina Encargada del Examen Preliminar Internacional y se envía al solicitante según Artículo 36.
- Este INFORME comprende un total de 8 hojas, inclusive esta portada
- Este Informe también comprende ANEXOS, que incluyen:

- ☐ (Enviado al Solicitante y a la Oficina Internacional) un total de _____ hojas como sigue:
 - ☐ Hojas con la descripción, las reivindicaciones y / o los dibujos que se han corregido y que son la base de este Informe y / u hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Oficina (consultar Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas).
 - ☐ Hojas que reemplazan hojas anteriores, pero que esta Oficina considera que contiene una modificación que va más allá de la divulgación en la solicitud internacional como fue presentada, como se indica en el punto 4 de la Casilla No. I y la Casilla Adicional.
- ☐ (Enviado únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de medios electrónicos) _____, que contiene un listado de la secuencia y / o tablas relacionadas con los mismos, únicamente legibles por computador como se indica en la Casilla Adicional relacionada con el Listado de la secuencia (Consultar la Sección 802 de las Instrucciones Administrativas).

- Este 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 Falta de unidad de la invención
- ☒ Casilla No. V Comprobación justificada según Artículo 35(2) con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial; documentos y explicaciones sustentando esta comprobación
- ☒ 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 conclusión de este Informe 23.09.2004
Nombre y dirección postal de IPEA/SE Patent- och registreringsverket Casilla 5055 S-102 42 STOCKHOLM Fax No.+4 6 8 667 72 88	Empleado Autorizado Eva Johansson/EÖ Teléfono No.+4 6 8 782 25 00

Formato PCT/IPEA/409 (portada) (enero 2004)

**INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No
PCT/SE 2003/000857

Casilla No. I Bases del Informe

1. Con respecto al idioma, este informe se basa en la solicitud internacional en el idioma en el cual se radicó la solicitud internacional, salvo indicación en contrario consignada bajo este punto.
- ☐ Este Informe se basa en una traducción del idioma original a los siguientes idiomas _____, el cual corresponde al idioma de una traducción suministrada para efectos de:
- ☐ Búsqueda Internacional (bajo las Reglas 12.3 y 23.1 (b))
 - ☐ Publicación de la solicitud internacional (bajo la Regla 12.4)
 - ☐ Examen preliminar internacional (bajo las Reglas 55.2 y / o 55.3)
2. Con respecto a los elementos de la solicitud internacional (*hojas intercambiables que se han suministrado a la Oficina receptora en respuesta a una invitación bajo el Artículo 14 que se mencionan en este Informe como "presentadas originalmente" y no se anexan a este Informe*):
- ☒ Solicitud internacional como fue radicada / presentada originalmente
- ☐ La descripción:
- páginas _____, como fueron radicadas / presentadas originalmente
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- ☐ Las reivindicaciones:
- páginas _____, como fueron radicadas / presentadas originalmente
- páginas * _____ como fueron modificadas (junto con cualquier declaración) bajo el Artículo 19
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- ☐ Los dibujos:
- páginas _____, como fueron radicadas / presentadas originalmente
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- páginas * _____, recibidas por esta Oficina el _____
- ☐ Un listado de la secuencia y / o cualquier tabla(s) relacionada(s) - Consultar Casilla Adicional Relacionada con el Listado de la secuencia.
3. ☐ Las modificaciones han acarreado la anulación de:
- ☐ la descripción, páginas _____.
 - ☐ las reivindicaciones, Nos. _____.
 - ☐ los dibujos, hojas / figs _____.
 - ☐ el listado de la secuencia (*especificar*): _____.
 - ☐ cualquier tabla(s) relacionada con el listado de la secuencia (*especificar*): _____.
4. ☐ El presente informe se preparó sin tener en cuenta (algunas de) las modificaciones adjuntas a este informe y que se han efectuado puesto que se consideró que van más allá de la radicación, como se indica en la Casilla Adicional (regla 70.2 (c))
- ☐ la descripción, páginas _____.
 - ☐ las reivindicaciones, Nos. _____.
 - ☐ los dibujos, hojas / figs _____.
 - ☐ el listado de la secuencia (*especificar*): _____.
 - ☐ cualquier tabla(s) relacionada con el listado de la secuencia (*especificar*): _____.

* Si el punto 4 aplica, algunas o todas esas hojas se pueden marcar como "reemplazada"

**INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No
PCT/SE 2003/000857

Casilla No. III. No se establece una opinión con respecto a novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial

El tema de si la invención reivindicada parece ser novedosa, si es una actividad inventiva (que no es obvio) o si tiene aplicabilidad industrial no ha sido examinado con respecto a:

- ☐ la totalidad de la solicitud internacional
☒ reivindicaciones Nos. 11

porque:

- ☒ la citada solicitud internacional o las citadas reivindicaciones Nos. 11
se relacionan con el siguiente tema que no requiere un examen preliminar internacional (especificar):

Consultar Regla 67.1.(iv)PCT.: Métodos para el tratamiento del cuerpo humano o animal por medio de cirugía o terapia, al igual que medios de diagnóstico.

- ☒ la descripción, las reivindicaciones o los dibujos (indicar los elementos particulares abajo) o las citadas reivindicaciones Nos. _____ son tan poco claros que no fue posible formarse una opinión significativa (especificar):

- ☐ las reivindicaciones, o las citadas reivindicaciones Nos. _____ carecen de soporte en la descripción de manera que no fue posible formarse una opinión significativa.

- ☐ no se ha establecido un informe internacional de búsqueda para las citadas reivindicaciones Nos. _____

- ☐ la secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos no cumple con la norma establecida en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas en cuanto que:

- | | |
|--------------------------------|---|
| la forma escrita | ☐ no fue suministrada |
| | ☐ no cumple con la norma |
| la forma legible en computador | ☐ no fue suministrada |
| | ☐ no cumple con la norma |

- ☐ las tablas relacionadas con la secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos, si viene en forma legible por computador, no cumple con las normas técnicas dispuestas en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.

- ☐ Consultar la Casilla Adicional para conocer otros detalles.

**INF RME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
SOBRE PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No.
PCT/SE 2003/000857

Casilla No. V Declaración motivada bajo Artículo 35(2) en cuanto a la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial; citas y explicaciones sustentando esta declaración

1. Declaración

Novedad (N)	Reivindicaciones 1-10	Sí
	Reivindicaciones	NO
Actividad Inventiva (IS)	Reivindicaciones 1-10	SI
	Reivindicaciones	NO
Posibilidad de Aplicación Industrial (IA)	Reivindicaciones 1-10	SI
	Reivindicaciones	NO

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)

Los siguientes documentos se citaron en el Informe de Búsqueda Internacional:

D1: US 6034104 A
D2: WO 0013671 A1
D3: WO 0018352 A2
D4: WO 0214270 A1
D5: WO 0042059 A1
D6: WO 9927913 A1
D7: WO 9739770 A1

El problema que la presente solicitud trata de resolver es el de buscar una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende una cantidad de fórmula (I) como se define en la solicitud.

El ámbito de la presente invención es muy amplio y comprende, solamente con tres excepciones, todas las formulaciones de liberación inmediata imaginables, incluyendo los compuestos de fórmula (I). Las Reivindicaciones realmente formulan el problema que la presente solicitud busca resolver, en vez de presentar una solución al problema. El examen se relaciona con formulaciones de liberación inmediata comprendiendo compuestos de fórmula (I) en general. Sin embargo la opinión se concentró en formulaciones similares a aquellas ejemplificadas en la solicitud.

La descripción divulga una multitud de excipientes que se pueden emplear en las formulaciones de la invención y presenta ejemplos de una gran variedad de formulaciones. De esta manera, la solicitud presenta varias soluciones totalmente diferentes para el problema de suministrar una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende un compuesto de fórmula (I).

**INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
SOBRE PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No.

PCT/SE 2003/000857

Casilla Adicional

En caso que el espacio en cualquiera de las casillas anteriores sea insuficiente.
Continuación de la: Casilla V

Se han examinado diferentes tipos de formulación de liberación inmediata, aunque la opinión se concentra en formulaciones similares a las que se presentan en los ejemplos.

El documento D1 presenta varios ejemplos (columna 16, línea 16- columna 18, línea 18) de formulaciones que comprenden inhibidores de trombina cuya estructura es muy similar a la de los compuestos de la presente invención. Los ejemplos muestran diferentes tipos de formulación que deben permitir una liberación inmediata, entre las cuales algunas son similares a las formulaciones de la presente invención.

D2 divulga formulaciones sólidas de liberación inmediata que comprenden inhibidores de trombina similares a los de la presente invención (página 3, líneas 8-14). Las formulaciones contienen por ejemplo, celulosa y almidón. El ejemplo 1 muestra una formulación que, aparte del agente activo, tiene los mismos ingredientes que las composiciones de los ejemplos 44-47, 76 y 78 de la presente invención.

D3 se relaciona con una preparación que comprende un inhibidor de trombina y / o un NSAID. Se divulgan varios ejemplos de formulaciones que parecen permitir una liberación inmediata y que se asemejan a las formulaciones de la presente solicitud.

D4 y D5 describen compuestos con una estructura muy similar a la de los compuestos de la presente invención. Los documentos divulgan una solución de agente activo y agua, una solución de agente activo y dimetilsulfoxida y una solución de etanol, solutol y agua (5:5:90). Estas composiciones corresponden a las composiciones excluidas del ámbito de la presente invención, y la única diferencia es que el ingrediente activo es ligeramente diferente.

La preparación de una formulación de liberación inmediata de un agente farmacéutico novedoso no se considera una invención como tal sino más bien un problema que se debe resolver. En el arte se conocen varias formulaciones de liberación inmediata, y una persona con destreza en el arte fácilmente las puede adaptar a sustancias novedosas. A partir de D1-D5 se conocen formulaciones de liberación inmediata que comprenden agentes activos similares a aquellos descritos en la presente invención, cuyas composiciones similares a las de los ejemplos de la presente solicitud son conocidas. Considerando lo que se sabe de D1-D5 y otras prioridades en el arte, se considera la preparación de formulaciones de liberación inmediata dentro del ámbito de una persona con destreza en el arte comprendiendo compuestos de fórmula (I).

**INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
SOBRE PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No.

PCT/SE 2003/000857

Casilla Adicional

En caso que el espacio en cualquiera de las casillas anteriores sea insuficiente.

Continuación de la: Casilla V

Compuestos con una estructura similar a los compuestos activos de la invención se conocen por ejemplo de D4 y D5 para su uso como agentes anticoagulantes. Por lo tanto se considera obvio para una persona con destreza en el arte que utilice los compuestos de la fórmula (I) para el tratamiento de desórdenes cardiovasculares.

La invención, de acuerdo con las reivindicaciones 1-10 de conformidad con el anterior razonamiento, carece de actividad inventiva. Para demostrar que el tema de la solicitud es inventivo, la formulación se debe definir apropiadamente con su composición real y limitarse a una sola invención para lo cual existe el soporte en la descripción y se debe mostrar un efecto inesperado comparado con composiciones similares conocidas en el arte.

Por lo tanto, la invención reivindicada se considera novedosa y con aplicación industrial pero carece de actividad inventiva.

D6 y D7 describen el estado general del arte y no se consideraron al establecer la opinión de esta declaración.

INF RME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
SOBRE PATENTABILIDAD

Solicitud Internacional No.
PCT/SE 2003/000857

198
146

Casilla No. 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 prioridad (reivindicación válida) (día/mes/año)
WO-0244145 A1	06.06.2002	30.11.2001	01.12.2000

2. Divulgaciones no escritas (Regla 70.9)

Tipo de divulgación no escrita	Fecha de divulgación no escrita (día/mes/año)	Fecha de divulgación escrita Que hace referencia a divulgación no escrita (día/mes/año)

**INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
SOBRE PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No.

PCT/SE 2003/000857

Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Se hacen las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, la descripción y los dibujos o sobre el tema de si las reivindicaciones están totalmente sustentadas por la descripción:

El ámbito de la presente invención es muy amplio y comprende, solamente con tres excepciones, todas las formulaciones de liberación inmediata imaginables, incluyendo los compuestos de fórmula (I). Las Reivindicaciones no explican de ninguna manera cómo se pueden obtener esas formulaciones de liberación inmediata. La formulación se define por una característica deseable, a saber que debe permitir la liberación inmediata del ingrediente activo, y no por su composición. Las reivindicaciones realmente formulan el problema que la presente solicitud busca resolver, en vez de presentar una solución al problema. Debido a lo anterior, se considera que las reivindicaciones no cumplen las exigencias de claridad como se dispone en el Artículo 6 del PCT. El examen se relaciona con formulaciones de liberación inmediata comprendiendo compuestos de fórmula (I) en general. Sin embargo la opinión se concentró en formulaciones similares a aquellas ejemplificadas en la solicitud.

La descripción divulga una multitud de excipientes que se pueden emplear en las formulaciones de la invención y presenta ejemplos de una gran variedad de formulaciones. De esta manera, la solicitud presenta varias soluciones totalmente diferentes para el problema de suministrar una formulación farmacéutica de liberación inmediata que comprende un compuesto de fórmula (I). Por otro lado, el problema de preparar, por ejemplo, una solución para una inyección es totalmente diferente del problema de preparar por ejemplo una tableta para una administración oral. De esta manera se puede considerar que la solicitud ofrece soluciones a diferentes problemas.

De acuerdo con la Regla 13 del PCT, la solicitud se relacionará con una invención únicamente o con un grupo de invenciones unidas por un solo concepto inventivo general. Independientemente de si se considera que la solicitud presenta diferentes soluciones para el mismo problema o para resolver diferentes problemas, dicho concepto inventivo general que relaciona todos los diferentes tipos de formulaciones de liberación inmediata no se puede encontrar en la presente solicitud. Por lo tanto se puede considerar que la presente solicitud comprende diferentes invenciones independientes. Sin embargo es imposible definir un número de invención específico. De nuevo, se han examinado diferentes clases de formulaciones de liberación inmediata, aunque la opinión se concentra en formulaciones similares a aquellas presentadas en los ejemplos.

199
767

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 100708-1 WO	
International application No. PCT/SE03/00857	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 IMMEDIATE RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION	
Box No. II APPLICANT(S)	
Name and address: (Family name followed by given names; 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 names; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country)	
ABRAHMSÉN ALAMI, Susanna 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 names; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country)	
INGHARDT, Tord 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.	

547

Sheet No. 2.

International application No.
PCT/SE03/00857

Continuation of Box No. II APPLICANT(S)

If none of the following sub-brands is used, this sheet should not be included in the demand.

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.)

SIGFRIDSSON, Carl-Gustaf
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

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.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

☐ Further applicants are indicated on another 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 34:the 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:

202
020

122

Sheet No. 4.

International application No.
PCT/SE03/00857

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: QF 1981/2003 | 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:

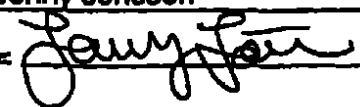
204
22

CHAPTER II

PCT

FEE CALCULATION SHEET

Annex to the Demand

International application No. PCT/SE03/00857	For International Preliminary Examining Authority use only	
Applicant's or agent's file reference 100708-1 WO	Date stamp of the IPEA	
Applicant AstraZeneca AB et al		
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		
☒ 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)		
☒ Authorization to charge the total fees indicated above.	IPEA/ SE	
☒ (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.	Deposit Account No.: 1432	
	Date: 10 December 2003	
	Name: Jenny Jönsson	
	Signature: 	

Power of Attorney
for Patents and Designs

GF 1961/03
23

205
M
J

We, AstraZeneca AB of 151 85 Södertälje, Sweden, hereby authorize:

ANDERSSON, Kerstin
BENNETT, Jennifer
BERRY, Ian Gordon
BIÖRCK, Zoë
BOAR, Robin

JÖNSSON, Jenny
LARSSON, Birgitta
LINDEROTH, Margareta
LOFTUS, Frank
MACK, John Richard

BRODOWSKY, Anna
BRYANT, Tracey
BURNS, Tracy
CELEBIOGLU, Sonya
DENERLEY, Paul Millington

MILLER, Thomas
MITCHELL, Kenneth
NELSON, Michael
PADGET, Lucy
PARK, Duncan

FARQUHARSON, Andrew
FREDRIKSSON, Gunilla
FRENCH, Philip
GAINY, Laurence David Scott
GILBERT, George

PHILLIPS, Neil Godfrey Alasdair
SAMUELSSON, Britta
STERNÅS, Ann-Sofie
STEVENS, Brian
SUMMERSELL, Richard

GILES, Allen Frank
GRIFFITHS-JOHNSON, Anna
HADLEY, John
HUDSON, Janette
HÄLLGREN, Christer

TAIT, Brian Steele
THOMAS, Mair
TIERNEY, Francis
TINSLEY, Rachel
WAHLSTRÖM, Christer

JANSSON, Anne

WALLIN IDSTAM, Åsa

with address Global Intellectual Property, AstraZeneca AB, SE-151 85
Södertälje, Sweden

to represent and duly sign for AstraZeneca AB in everything that concerns
Swedish and International patent applications, design applications and
~~applications divided or separated therefrom as well as patents and designs~~
based thereupon. This authorization includes the authority to accept writs of
indictment or summonses and other documents in proceedings and matters
~~concerning the application, patent or design~~

Södertälje, Sweden 4th April 2003

AstraZeneca AB (publ)



Kevin Bill, Director IP Services

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 28.05.2003 01:18:48 PM

100708-1 WO

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	100708-1 WO
I	Title of invention	IMMEDIATE 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)	ABRAHAMSEN ALAMI, Susanna
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

3/6

100708-1 WO

Original (for SUBMISSION) - printed on 26.05.2003 01:18:46 PM

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: GE GN KE LS MN ME SD SL SZ TZ UG ZN ZW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AZ BY KG KZ 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 BB BG BR BY BZ CA CH LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DX EC EE ES FI GB GD GE GH GM HN 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 ME NI NO NZ OM PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL TJ TM TN TR TT TZ UA UG UB UZ VC VH YU ZA ZN ZW

208

PCT REQUEST

100708-1 WO

Original (for SUBMISSION) - printed on 28.05.2003 01:18:48 PM

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)(ii)). 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 (i)		ASTRAZENECA AB is entitled as employer of the inventor, ABRAHAMSEN ALANI, / Susanna
VIII-2-1 (ii)		ASTRAZENECA AB is entitled as employer of the inventor, INGHAARDT, Tord
VIII-2-1 (iii)		ASTRAZENECA AB is entitled as employer of the inventor, MAGNUSSON, Anders /
VIII-2-1 (iv)		ASTRAZENECA AB is entitled as employer of the inventor, SIGFRIDSSON, / Carl-Gustaf
VIII-2-1 (v)		ASTRAZENECA AB is entitled as employer of the inventor, THUNE, Mikael /
VIII-2-1 (b)	This declaration is made for the purposes of:	all designations except the designation of the United States of America

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

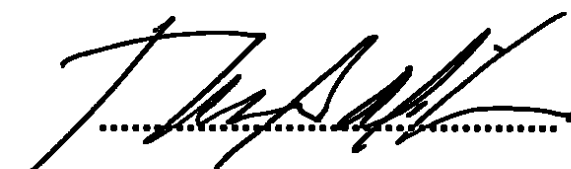
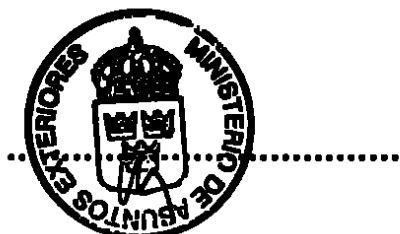
Original (for SUBMISSION) - printed on 26.05.2003 01:18:48 PM

100708-1 WO

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the International application)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	Date stamp of the receiving Office	
0-4	Form - PCT/RO/101 (Annex) PCT Fee Calculation Sheet	
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.04.2003)
0-8	Applicant's or agent's file reference	100708-1 WO
2	Applicant	ASTRAZENECA AB, et al.
12	Calculation of prescribed fees	fee amount/multiplier Total amounts (SEK)
12-1	Transmittal fee T	⇒ 1,200
12-2-1	Search fee S	⇒ 8,720
12-2-2	International search to be carried out by	SE
12-3	International fee	
	Basic fee	
	(first 30 sheets) b1	4,390
12-4	Remaining sheets	95
12-5	Additional amount (X)	100
12-6	Total additional amount b2	9,500
12-7	b1 + b2 = B	13,890
12-8	Designation fees	
	Number of designations contained in International application	95
12-9	Number of designation fees payable (maximum 5)	5
12-10	Amount of designation fee (X)	950
12-11	Total designation fees D	4,750
12-12	PCT-EASY fee reduction R	-1,350
12-13	Total international fee (B+D-R) I	⇒ 17,290
12-17	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+I+P)	⇒ 27,210
12-18	Mode of payment	authorization to charge deposit account
12-20	Deposit account instructions	
	The receiving Office:	Swedish Patent Office (RO/SE)
12-20-1	Authorization to charge the total fees indicated above.	✓
12-20-2	Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	✓
12-20-3	Authorization to charge the fee for priority document.	✓
12-21	Deposit account No.	1432
12-22	Date	26 May 2003 (26.05.2003)

202

APOSTILLA**(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)****1. Pais: Suecia****El presente documento oficial****2. ha sido firmado por Anne-Marie Bonde****3. en su calidad de Notario Público****4. y lleva el timbre/sello de Notario Público en Estocolmo****Atestado****5. en Estocolmo****6. el 8 de noviembre de 2004****7. de Ministerio de Asuntos Exteriores****8. N° 8008****9. Timbre/Sello****10. Firma**
Roland Nilsson

100708-1P CO
ASSIGNMENT

TRASPASO

The undersigned,

abajo firmado

Susanna ALAMI ABRAHMSSEN

Tord INGHARDT

Anders MAGNUSSON

Carl-Gustaf SIGFRIDSSON

Mikael THUNE

domiciled in
AstraZeneca R&D Molndal, S-431 83 Molndal,
Sweden

domiciliado en

hereby state under oath to be the sole and true inventors
of

decla bajo juramento ser único y verdadero inventor
de.

IMMEDIATE RELEASE PHARMACEUTICAL FORMULATION

state as well that assign, without reservations or
limitation, in favor of

Declar asimismo que ced y
transf sin reserva ni limitación, a favor de la
sociedad

AstraZeneca AB

a corporation organized and existing under the laws of
Sweden

organizada y existente de conformidad con la leyes de

domiciled in

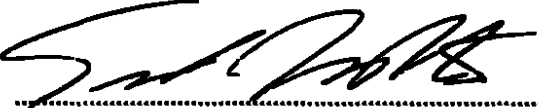
domiciliada en

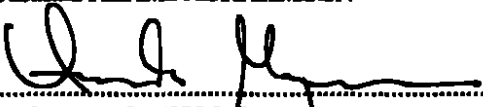
SE-151 85 Södertälje, Sweden

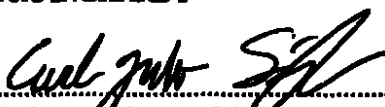
all rights inherent to said invention, and that the above
mentioned corporation hereby is enabled to apply, in its
name, for the corresponding patent in the Republic of
Colombia.

Todos los derechos inherentes a dicha invención y que la
citada sociedad queda facultada para solicitar en su
nombre la patente correspondiente en la República de
Colombia.


.....
Susanna ALAMI ABRAHMSSEN


.....
Tord INGHARDT


.....
Anders MAGNUSSON


.....
Carl-Gustaf SIGFRIDSSON


.....
Mikael THUNE



212
JF

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

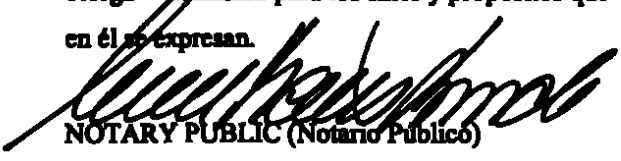
A los 05 días del mes de Noviembre
2004, comparecí personalmente ante mi,
Notario Publico,

On this day of
2004 personally appeared before me, a Notary Public,

SUSANNA A L A M I A B R A H M S E N,
ANDERS M A G N U S S O N,
TORD I N G H A R D T,
CARL-GUSTAF S I G F R I D S S O N y
MIKAEL T H U N E

a quien doy fé de conocer y me consta que
la persona descrita y firmante
del documento que precede, declarado ante mí que
otorga el mismo para los fines y propósitos que
en él se expresan.

to me known and known to me to be the person
described in and who executed the foregoing document,
and
duly acknowledged to me that
executed the same for the uses and purposes
therein expressed.


NOTARY PUBLIC (Notario Publico)

Anne-Marie Bonde



CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

A los días del mes de
2004, comparecí personalmente ante mi,
Notario Publico,

On this day of
2004 personally appeared before me, a Notary Public,

a quien doy fé de conocer y me consta que
la persona descrita y firmante
del documento que precede, declarado ante mí que
otorga el mismo para los fines y propósitos que
en él se expresan.

to me known and known to me to be the person
described in and who executed the foregoing document,
and
duly acknowledged to me that
executed the same for the uses and purposes
therein expressed.

TRADUCCION DEL SELLO QUE SE ENCUENTRA EN EL DOCUMENTO DE CESIÓN DE DERECHOS SOBRE LA INVENCION, OTORGADO POR LOS INVENTORES: SUSANA ALAMI ABRAHMSSEN, TORD INGHARDT, ANDERS MAGNUSSON, CARL-GUSTAF SIGGFRIDSSON, MIKAEL THUNE, A LA SOCIEDAD **ASTRAZENECA AB**, DOMICILIADA EN S-151 85 SÖDERTÄLJE, SUECIA, DEL SUECO AL CASTELLANO.

ANNE-MARIE BONDE

NOTARIO PÚBLICO DE ESTOCOLMO

Brigard & Castro

BOGOTA - COLOMBIA

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros)

I (We) ASTRAZNECA AB

domiciliado(s) en

domiciled in SE-151:3odertalja, 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. 18-58 Piso 9, Bogotá (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

Heraby 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 vegetables 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.

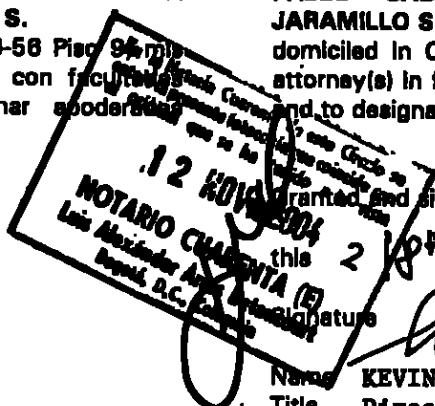
To that effect they are hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; 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. 18-58, 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, England this 2 day of July 2003

Name KEVIN BILL
Title Director, IP Services



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 (es) conozco y me consta que es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del documento que precede y quien(es) 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

KEVIN BILL
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

ATTORNEY
of
ATRAZENECA AB

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 hereunto 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.

215
2/3

T
P
a
e
y

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/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

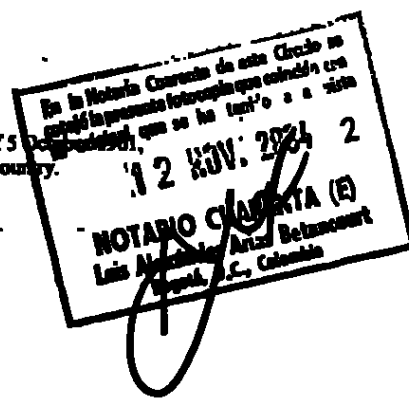
10. Signature: J. Ireland

[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.



26

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1981)

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

5. en Londres

6. el 17 de Febrero de 2004

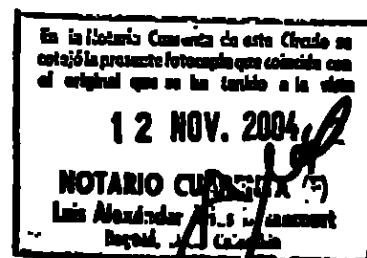
7. por El secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y de la Comunidad

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
Serial 5562241

Datos de la oficina de registro									
Clase de oficina:	Registraduría	Notaría	☒	Consulado	Corregimiento	Insp. de Policía	Código	9995	
País - Departamento - Municipio - Corregimiento o Inspección de Policía									
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 País - Departamento - Municipio - Corregimiento o Inspección de Policía		
COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTA D.C.		
Fecha de la defunción	Hora	Número de certificado de defunción
Año 2004 Mes 10 Día 30 04:10 PM		A- 2094375.
Presunción de muerte		
Lugar que profiere la sentencia	Fecha de la sentencia	
Documento presentado	Nombre y cargo del funcionario	
Autorización judicial ☐ Certificado Médico ☒	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 firma del funcionario que autoriza	
Año 2004 Mes 11 Día 02		BLANCA ROSA GONZALEZ RESTREPO NOTARIA	

PADRES: ALFON SO CASTRO MERCEDES DUQUE.		ESPACIO PARA NOTAS
--	--	--------------------

ORIGINAL PARA LA OFICINA DE REGISTRO

NOTARIA 32

DEL CIRCULO DE SANTA FE DE BOGOTA, D.C.

Germán Eleázar Moreno L.
Notario

215
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: 1 de Mayo 2004.....

NEILSON FLOREZ O
SECRETARIO DELEGADO

218
216

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 64121764 00000000 Folios: -215
Fecha (AMD): 2004-12-02 16:46:38
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

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 fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que 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: *C. P. M. Nueva*

Fecha:

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
JUAN PABLO CADENA SARMIENTO
Apoderado(a)
ASTRAZENECA AB

REFERENCIA:	Radicación N°	04-121764
	Solicitud internacional	PCT/SE03/00857
	Fecha inicio fase nacional	31/12/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio N°	1782
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486, de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la oficina de comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la Decisión 486.

Cúmplase

Dado en Bogotá D C, 20 DIC. 2004


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe División de Nuevas Creaciones.

202044