РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(19) BG (11) 107310 A

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ
ЗА
ИЗОБРЕТЕНИЕ

7(51) C 07 D 487/04
A 61 K 31/519
A 61 P 35/00
//(C 07 D 487/04
C 07 D 257:00
C 07 D 239:00)

(21) Регистров № 107310
(22) Заявено на 25.11.2002
(24) Начало на действие на патента от:

Приоритетни данни

(31) 00202181 (32) 22.06.2000 (33) EP

(41) Публикувана заявка в бюлетин № 7 на 31.07.2003
(45) Отпечатано на
(46) Публикувано в бюлетин № на
(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):
JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.
BEERSE (BE)

(72) Изобретател(и):
Marc Gaston Venet
Patrick Rene Angibaud
Issy-Les-Moulineaux (FR)
David William End
Titusville, NJ (US)

(74) Представител по индустриална собственост:
Георги Цветанов Перев,1124 София, ул. "Леонардо да Винчи" 3

(86) № и дата на PCT заявка:
PCT/EP01/06747, 13.06.2001
(87) № и дата на PCT публикация:
WO01/98302, 27.12.2001

(54) 1,2-АНЕЛИРАН ХИНОЛИНОВ ЕНАНТИОМЕР, ИНХИБИРАЩ ФАРНЕЗИЛТРАНСФЕРАЗА

(57) Изобретението се отнася до (-)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1H-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-α]хиназолин-7-метанамин и до негови фармацевтично приемливи присъединителни с киселина соли, както и до използването на тези съединения в медицината, по-специално за лечение на рак.

14 претенции

BG 107310 A

25.11.02

1,2-АНЕЛИРАН ХИНОЛИНОВ ЕНАНТИОМЕР, ИНХИБИРАЩ ФАРНЕЗИЛТРАНСФЕРАЗА

ОБЛАСТ НА ТЕХНИКАТА

Изобретението се отнася до нов 1,2-анелиран хиназолинов енантиомер, до неговото получаване, до фармацевтични състави, съдържащи новото съединение и до използването на това съединение като лекарство, както и до методи за лечение чрез прилагане на съединението.

ПРЕДШЕСТВАЩО СЪСТОЯНИЕ НА ТЕХНИКАТА

Онкогени често кодират белтъчни компоненти на пътища на сигнална трансдукция, което води до стимулиране на клетъчно развитие и митогенеза. Онкогенна експресия в култивирани клетки води до клетъчна трансформация, която се характеризира със способността на клетки да се развиват в мек агар и развитието на клетки като компактно огнище без контактното инхибиране, което проявяват нетрансформирани клетки. Мутация и/или свръхекспресия на дадени онкогени са свързани често с рак при хора. Особена група онкогени, известна като *ras*, е идентифицирана у бозайници, птици, насекоми, мекотели, растения, гъби и дрожди. Семейството на *ras* онкогени у бозайници се състои от три основни члена ("изоформи"): H-*ras*, K-*ras* и N-*ras* онкогени. Тези *ras* онкогени кодират за много сродни протеини, генерично известни като $p21^{ras}$. Веднъж свързани с плазмени мембрани, мутантът или онкогенните форми на $p21^{ras}$ създават сигнал за трансформацията и неконтролираното развитие на злокачествени туморни клетки. За да се достигне този трансформиращ потенциал, прекурсорът на $p21^{ras}$ онкобелтък трябва да претърпи ензимно ката-

лизирана фарнезилация на цистеиновия остатък, разположен в карбоксил-краен тетрапептид. Следователно, инхибитори на ензимите, които катализират тази модификация, т.е., фарнезилтрансфераза, ще пречат на мембранното свързване на $p21^{ras}$ и ще блокират анормалното развитие на *ras*-трансформирани тумори. Оттук, най-общо се приема, че фарнезилпротеинтрансферазни инхибитори могат да бъдат много полезни като противоракови средства за тумори, в които *ras* подпомага трансформацията.

Тъй като, мутирали онкогенни форми на *ras* често се срещат при много ракови заболявания при хора, най-вече, при повече от 50% карциноми на колона и на панкреаса (Kohl et al., *Science*, том 260, 1834-1837, 1993), се предполага, че инхибитори на фарнезилпротеинтрансфераза могат да бъдат много полезни срещу тези видове рак.

В WO 97/16443, WO 97/21701, WO 98/40383 и WO 98/49157, са описани 2-хинолонови производни, които проявяват инхибиращо действие към фарнезилтрансфераза. Други хинолонови съединения, които имат инхибиращо действие по отношение на фарнезилтрансфераза, са описани в WO 00/12498, 00/12499 и 00/47574. В WO 00/39082 е описан клас нови 1,2-анелирани хинолинови и хиназолинови съединения, които имат свързан при азота или при въглерода имидазол и които проявяват инхибиращо действие към фарнезилпротеинтрансфераза. Между съединенията, описани в последното патентно описание, е (±)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-a]хиназолин-7-метанамин, който е получен във формата на енантиомерна смес. Сега, сместа е разделена и е намерено, че (-)енантиомерът има особено полезни фармакологични свойства, в сравнение с енантиомерната смес.

СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Ето защо, изобретението се отнася до (-)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло-[1,5-а]хиназолин-7-метанамин и до негови фармацевтично приемливи присъединителни с киселина соли.

Горният (-) енантиомер, оттук нататък, се споменава като съединението съгласно изобретението.

Съединението съгласно изобретението, по принцип, е в по същество чиста форма, т.е., по същество не съдържа противоположният (+) енантиомер, така например, съдържа под 5 % (т/т), за предпочитане под 2 % (т/т) и преимуществено под 1 % (т/т) от (+) енантиомера.

Фармацевтично приемливите присъединителни с киселина соли, както са споменати по-горе, се има предвид, че съдържат терапевтично активните нетоксични присъединителни с киселина солеви форми, които съединението съгласно изобретението, е способно да образува. Последното съединение може да се превърне в негови фармацевтично приемливи присъединителни с киселина соли чрез обработване на основната форма с подходяща киселина. Подходящи киселини са, например, неорганични киселини, такива като халогеноводородни киселини, като например, хлороводородна или бромоводородна киселина; сярна; азотна; фосфорна и други подобни киселини; или органични киселини, като например, оцетна, пропанова, хидроксиоцетна киселина, млечна, пирогроздена, оксалова, малонова, янтарна (т.е., бутандионова киселина), малеинова, фумарова, винена, ябълчна, лимонена, метансулфонова, етансулфонова, бензенсулфонова, р-толуенсулфонова, цикламена, салицилова, р-амино-салицилова, памоена киселина и други киселини.

Терминът "присъединителни с киселина соли" включва също присъединителни форми с хидрати и разтворител, които съединението съгласно изобретението е способно да образува. Примери за такива форми са, например, хидрати, алкохолати и други подобни.

Когато се използва тук, терминът "съединение съгласно изобретението" трябва да се подразбира, че включва и фармацевтично приемливите присъединителни с киселина соли.

(-) Енантиомерът съгласно изобретението може да се получи чрез разделяне на изходната енантиомерна смес, описана в споменатата по-горе публикация WO 00/39082. Разделянето може да се осъществи по общоприет начин, например, чрез взаимодействие с подходяща хирална киселина, като (+)-6-аминопеницилановa киселина, D или L аспарагинова киселина, (1S,3R) или (1R,3S)-камфорова киселина, (1S) или (1R)-10-камфорсулфонова киселина, карбобензилокси-L-пролин, холева киселина, дехидрохолева киселина, деоксихолева киселина, (2S,3S) или (2R,3R) дибензоилвинена киселина, (2S,3S) или (2R,3R) диацетилвинена киселина, (2S,3S) или (2R,3R)-винена киселина, (2S,3S) или (2R,3R) дитолуоилвинена киселина; 2,3:4,6-ди-O-изопропилиден-2-кето-L-гулонова киселина, (+)-3,4-дихидро-2H-1-бензопиран-2-карбоксилна киселина, (R) или (S)-4-(2-хлорофенил)-2-хидрокси-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфоринан-2-оксид, D-глюконова киселина, D или L-глутаминова киселина, D-изоаскорбинова киселина, (S) или (R)-2-хидроксипропанова киселина, лактобионова киселина, D или L-малонова киселина, (R) или (S)-бадемена киселина, L-2-((4-метоксифенил)сулфонил)аминопентандионова киселина, L-2-((4-метилфенил)сулфонил)аминопентандионова киселина, (S)-6-метокси-α-метил-1-нафталиноцетна киселина, (S)-2-(фенилкарбамоил-

окси)-пропанова киселина, (-)-3-пинанкарбоксилна киселина, (R) или (S)-2-пиролидон-5-карбоксилна киселина или (R)-тиазолидин-4-карбоксилна киселина. Получените солеви форми, след това, се разделят, например, чрез селективна или фракционна кристализация и желаният енантиомер се освобождава оттам с основа.

Алтернативен начин за разделяне на желаната енантиомерна форма от изходната смес включва течна хроматография с използване на хирална неподвижна фаза. Чистата енантиомерна форма може да се получи също от съответната чиста енантиомерна форма на подходящите изходни продукти, при условие, че реакцията протече стереоспецифично. Чистата енантиомерна форма може да се получи също като се започне с подходящ рацемичен изходен материал, при условие, че реакцията протече енантиоспецифично. Чистата енантиомерна форма може да се получи чрез взаимодействие на изходната енантиомерна смес с един енантиомер на някои хирални средства, като киселини или киселинни хлориди, за да се получат диастереоизомерни смеси, които се разделят, например, чрез селективна или фракционна кристализация или чрез използване на течна хроматография, до чисти диастереоизомери. Подходящият диастереоизомер може след това да се раздели до желания енантиомер. Изходната енантиомерна смес може да се получи съгласно методите, описани в WO 00/39082 или както е описано по-конкретно тук.

Съединението съгласно изобретението и негови фармацевтично приемливи присъединителни с киселина соли имат ценни фармакологични свойства, тъй като те имат инхибиращо деиствие върху фарнезилпротеинтрансфераза ((FPTase), което е изненадващо силно в сравнение с действието на изходна-

та енантиомерна смес. И така, последната смес има IC_{50} при инхибиращото действие върху FPTase 1.1 nM, като за (-) енантиомера тази концентрация е 0.7 nM.

Съгласно изобретението се предлага метод за инхибиране на ненормалното развитие на клетки, включително на трансформирани клетки, чрез прилагане на ефективно количество от съединението съгласно изобретението. Ненормалното развитие на клетки се отнася до клетъчно развитие, независимо от нормалните регулаторни механизми (като например, загуба на контактно инхибиране). Това включва ненормалното развитие на: (1) туморни клетки (тумори), експресиращи активиран *ras* онкоген; (2) туморни клетки, в които *ras* протеинът е активиран вследствие на онкогенна мутация на друг ген; (3) доброкачествени и злокачествени клетки на други пролиферативни заболявания, при които се случва *ras* активация. Освен това, в литературата се предполага, че *ras* онкогени не само способстват развитието на тумори *in vivo* чрез директно въздействие върху развитието на туморна клетка, но и индиректно, т.е., чрез подпомагане на индуциран от тумор ангиогенезис (Rak. J. et al, *Cancer Research*, 55, 4575-4580, 1995). Фармакологично насочени мутанти *ras* онкогени могат евентуално да потиснат частично развитието на твърд тумор *in vivo* чрез инхибиране на индуциран от тумор ангиогенезис.

Изобретението се отнася до метод за инхибиране на туморно развитие чрез прилагане на ефективно количество от съединението съгласно изобретението към пациент, например, бозаиник (и по-специално човек), който се нуждае от такова лечение. По-специално, изобретението се отнася до метод за инхибиране развитието на тумори, експресиращи активиран

ras онкоген чрез прилагането на ефективно количество от съединението съгласно изобретението. Примери на тумори, които могат да бъдат инхибирани, без да се ограничават до изброените, са: белодробен рак (например, аденокарцином и включително едроклетъчен белодробен рак), панкреасни ракови заболявания (например, панкреасен карцином, такъв като, например, екзокринен панкреасен карцином), ракови заболявания на колона (например, колоректални карциноми, такива като, например, аденокарцином на колона и аденом на колона), хематопоетични тумори с лимфоиден произход (например, остра лимфоцитарна левкемия, В-клетъчен лимфом, лимфом на Буркит), миелоидни левкемии (например, остра миелогенна левкемия (AML), тироиден фоликуларен рак, миелодиспластичен синдром (MDS), тумори с мезенхимен произход (например, фибросаркоми и рабдомиосаркоми), меланоми, тератокарциноми, невробластоми, глиоми, злокачествен тумор на кожата (например, кератоакантоми), рак на гърдата (например, напреднал рак на гърдата), бъбречен карцином, карцином на яичника, карцином на пикочния мехур и епидермален карцином.

Съгласно изобретението се осигурява и метод за инхибиране на пролиферативни заболявания, както злокачествени, така и доброкачествени, при които *ras* протеини са активирани анормално в резултат на онкогенна мутация в гени, със споменатото инхибиране, когато е осъществено чрез прилагане на ефективно количество от описаното тук съединение към пациент, нуждаещ се от такова лечение. Така например, злокачественото пролиферативно заболяване невроfиброматоза или тумори, в които *ras* се активира поради мутация или свръх-

експресиране на тирозинкиназни онкогени, може да бъде инхибирано чрез съединенията съгласно изобретението.

Съединението съгласно изобретението може да се използва за други терапевтични цели, като например:

a) повишена чувствителност на тумори към радиотерапия чрез прилагане на съединението съгласно изобретението преди, по време на или след облъчване на тумора за лечение на рак, например, както е описано в WO 00/01411;

b) лечение на атропатии, като ревматоиден артрит, остеоартрит, ювенилен артрит, подагра, полиартрит, псориатичен артрит, анкилозиращ спондилоартрит и системен еритематозен лупус, например, както е описано в WO 00/01386;

c) инхибиране на клетъчна пролиферация на гладък мускул, включително съдови пролиферативни заболявания, атеросклероза и рестеноза, например, както е описано в WO 98/55124;

d) лечение на възпалителни състояния, като улцерозен колит, болест на Крон, алергичен ринит, хомологична болест, конюнктивит, астма, синдром на остър респираторен дистрес (ARDS), болест на Бехчет, отхвърляне на трансплантат, уртикария, алергичен дерматит, кръгова алопеция, склеродермия, обрив, екзема, дерматомиозит, акне, диабет, системен еритематозен лупус, болест на Кавазаки, множествена склероза, емфизем, кистозна фиброза и хроничен бронхит;

e) лечение на ендометриоза, маточни фиброми, дисфункционално маточно кървене и вътрематочна хиперплазия;

f) лечение на очна васкуларизация, включително васкулопатия, засягаща ретинални и хориоидални съдове;

g) лечение на патологии, дължащи се на фиксиране на хетеротримерна G протеинова мембрана, включително болести,

свързани със следните биологични функции или нарушения: обоняние, вкус, светлина, усещане, невротрансмисия, невродегенерация, функциониране на ендокринна и екзокринна жлеза, автокринно и паракринно регулиране, кръвно налягане, ембриогенезис, вирусни инфекции, имунологични функции, диабет, пълнота;

h) инхибиране на вирусен морфогенезис, например, чрез инхибиране реакции на пренилиране или след-пренилиране на вирусен протеин, като големият делта антиген на вируса на хепатит D; и лечението на HIV инфекции;

i) лечение на поликистозно бъбречно заболяване;

j) потискане на индуциране на индуцируем азотен оксид, включително на смущения, медиирани от азотен оксид или цитокин, септичен шок, цитотоксичност, инхибираща апоптоз и азотен оксид;

k) лечение на малария.

Следователно, изобретението се отнася до съединението съгласно изобретението за използване като лекарство, както и до използването на това съединение за получаване на лекарство за лечение на едно или повече от гореспоменатите състояния.

За лечението на горните състояния, съединението съгласно изобретението може, за предпочитане, да се използва в комбинация с едно или повече противоракови средства, като например, избрани платинови координационни съединения, например цисплатин или карбоплатин, таксанови съединения, като например, паклитаксел или доцетаксел, камптотецинови съединения, например, иринотекан или топотекан, противотуморни винка алкалоиди, например винбластин, винкристин или винорелбин, противотуморни нуклеозидни производни, като

например 5-флуороурацил, гемцитабин, азотен иприт или нитрозоуреа алкилиращи средства, като например, циклофосфамид, хлорамбуцил, кармустин или ломустин, противотуморни антрациклинови производни, като например, даунорубицин, доксорубицин или идарубицин; HER2 антитела, например, трастзумаб; и противотуморни подофилотоксинни производни, като например, етопозид или тенипозид; и антиестрогенни средства, включително антагонисти на естрогенен рецептор или селективни модулатори на естрогенен рецептор, за предпочитане тамоксифен или алтернативно, торемифен, дролоксифен, фаслодекс и ралоксифен, или ароматазни инхибитори, такива като ексеместан, анастрозол, летразол и ворозол.

От гледна точка на полезните му фармакологични свойства, въпросното съединение може да се формулира в различни фармацевтични форми за приложение.

За да се приготвят фармацевтичните състави съгласно изобретението, ефективно количество от съединението, в основна или киселинна присъединителна солева форма, като активен ингредиент, се смесва интимно с фармацевтично приемлив носител, който може да бъде в много разнообразни форми, в зависимост от желаната препаративната форма за приложение. Тези фармацевтични състави е желателно да бъдат в единични дозирани форми, подходящи, за предпочитане, за орално, ректално, перкутанно прилагане или чрез парентерално инжектиране. Така например, при получаване на съставите в орална дозирана форма, може да се използва всяка обичаина фармацевтична среда, като например, вода, гликоли, масла, алкохоли и други, в случай на течни орални препарати, такива като суспензии, сиропи, елексири и разтвори; или твърди носители, като нишестета, захари, каолин, смазващи

вещества, свързващи вещества, дезинтегратори и други подобни, в случай на прахове, хапчета, капсули или таблетки. Поради лесното им прилагане, таблетките и капсулите представляват най-предпочитаната орална дозирана стандартна форма, като в този случай очевидно се използват твърди фармацевтични носители. За парентералните състави, носителят обикновено включва стерилна вода, поне, в по-голямата си част, въпреки, че могат да се включат други ингредиенти, подпомагащи разтворимостта, например. Могат да се приготвят, например, инжекционни разтвори, в които носителят включва физиологичен разтвор, глюкозен разтвор или смес от физиологичен и глюкозен разтвор. Могат да се приготвят и инжекционни суспензии, като в този случай могат да се използват подходящи течни носители, суспендиращи средства и други подобни. В съставите, подходящи за перкутанно приложение, носителят, по желание, съдържа подобряващо проникването средство и/или подходящо овлажняващо средство, по желание, смесено с подходящи добавки от всякакъв тип в малки количества, като тези добавки не причиняват съществен вреден за кожата ефект. Тези добавки могат да подпомогнат прилагането към кожата и/или могат да бъдат полезни за приготвянето на желаните състави. Тези състави могат да се прилагат по различни начини, като например, трансдермален пластир, като "spot-on", като мазило.

От особено значение е, гореспоменатите фармацевтични състави да се формулират в дозирана единична форма за полесно прилагане и еднаквост на дозите. Единичната дозирана форма, както е използвана в описанието и претенциите тук, се отнася до отделни физични единици, подходящи като неразделени дози, като всяка единица съдържа предварително опре-

делено количество активен ингредиент, изчислено да осигурява желания терапевтичен ефект, заедно с необходимия фармацевтичен носител. Примери на такива единични дозирани форми са таблетки (включително делими или покрити таблетки), капсули, хапчета, пакетчета с прах, нишестени капсули, инжекционни разтвори или суспензии, чаени лъжички, супени лъжици и други подобни, както и техни отделни кратни дози.

Специалистът в тази област лесно може да определи ефективното количество от представените по-горе опитни резултати. Най-общо, се подразбира, че ефективното количество е от 0.01 mg/kg до 100 mg/kg телесно тегло и по-специално, от 0.05 mg/kg до 10 mg/kg телесно тегло. За възрастен принципно се предпочита прилагането на дневна доза от 10 до 600 mg, преимуществено от 50 до 500 mg и по-специално от 100 до 400 mg активен ингредиент, като особено се предпочитат дози от 200 или 300 mg. Може да е подходящо, необходимата доза да се прилага като две, три, четири или повече поддози през подходящи интервали от време през деня. Такива поддози могат да се формулират като единични дозирани форми, например, съдържащи от 10 до 500 mg и по-специално от 50 mg до 300 mg активен ингредиент в единична дозирана форма; дозирани единици, които съдържат 50 mg, 100 mg, 200 mg или 300 mg активен ингредиент, са особено предпочитани.

Следващите примери са предназначени да илюстрират изобретението.

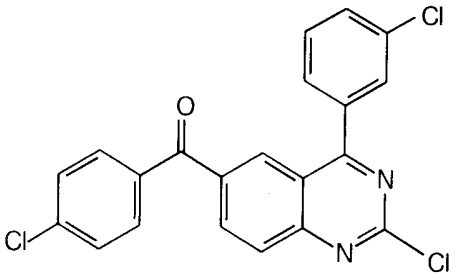
ПРИМЕРНИ ИЗПЪЛНЕНИЯ

Опитна част

Оттук нататък под "ТХФ" ще се разбира тетрахидрофуран, "ДИПЕ" ще означава диизопропилетер и "ЕтОАс" ще означава етилацетат.

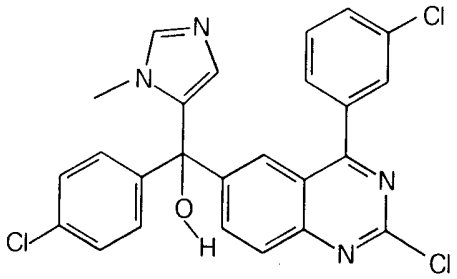
Пример

а) Получаване на междинно съединение (2)

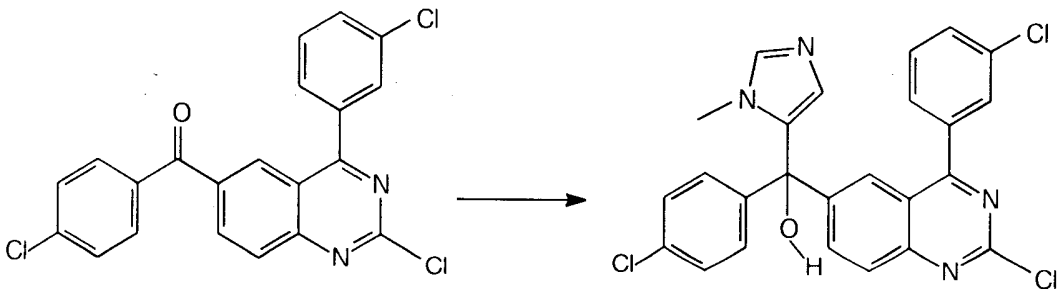


Смес от 6-(4-хлоробензоил)-4-(3-хлорофенил)-2(1*H*)-хиназолинон (междинно съединение 1) (0.0506 mol), получено както е дадено в WO 98/49157, в $POCl_3$ (100 ml) се разбърква и се нагрява при температурата на кипене 1 час. Разтворителят се изпарява до сухо. Остатъкът се поема в метиленхлорид. Разтворителят се изпарява до сухо. Остатъкът се поема в метиленхлорид. Сместа се излива в лед/NH_4OH. Органичният слой се отделя, суши се над магнезиев сулфат, филтрува се и разтворителят се изпарява до сухо. Остатъкът (24.2 g) кристализира от CH_3CN. Утайката се отфилтрува и се суши, получават се: 19.8 g от междинно съединение (2) (94%), т.т. 152°C.

b) Получаване на междинно съединение (3)



Разтвор на n-бутиллитий в хексан (1.6 M) (90 ml) се накапва при -70°C, под азотен поток, към смес от 1-метилимидазол (0.144 mol) в ТХФ (120 ml). Сместа се разбърква при -70°C в продължение на 15 минути. Накапва се хлоротриетилсилан (0.148 mol) при -70°C и сместа се разбърква 15 минути при тази температура. Накапва се разтвор на n-бутиллитий в хексан (1.6 M) (80 ml). Сместа се разбърква при -70°C в продължение на 15 минути. Накапва се смес от междинно съединение (2) (0.0822 mol) в ТХФ (300 ml). Сместа се разбърква при -70°C в продължение на 1 час, хидролизира се, екстрахира се с етилацетат и се отдекантира. Органичният слой се суши над магнезиев сулфат, филтрува се и разтворителят се изпарява. Остатъкът се пречиства чрез колонна хроматография върху силикагел. Чистите фракции се събират и разтворителят се изпарява, като се получават 24.9 g (61%) от междинно съединение (3).



междинно съединение 2 - междинно съединение 3

c) Смес от междинно съединение (3) (0.0061 mol) и натриев азид (0.0079 mol) в N,N-диметилацетамид (DMA) (20 ml) се разбърква при 50°C в продължение на 18 часа. Сместа се охлажда до стайна температура и се излива върху ледена вода. Утайката се отфилтрува, промива се с вода напълно и се поема в метиленхлорид. Органичният слой се суши, филтрува се и

разтворителят се изпарява. Остатъкът кристализира от CH_3CN/DIPE. Утайката се отфилтрува и се суши, като се получават 2.3 g (75%) от (±)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-a]хиназолин-7-метанол (междинно съединение 4); т.т. 232-233°C.

d) Смес от междинно съединение (4) (0.0573 mmol) и сулфонилуреа (300 g) се разбърква при 160°C в продължение на 5 часа и след това се охлажда. Добавя се ледена вода, след това метиленхлорид и сместа се филтрува върху целит. Органичният слой се отделя, суши се над магнезиев сулфат, филтрува се и разтворителят се изпарява до сухо. Остатъкът се пречиства чрез колонна хроматография върху силикагел. Чистата фракция се събира и разтворителят се изпарява, като се получават 7.5 g (26%) (±)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-a]хиназолин-7-метанамин (междинно съединение 5).

e) Междинно съединение (5) се разделя на неговите енантиомери и се пречиства чрез хроматография върху Chipalpak AD® (елуент: хексан/етанол 50/50; 15-35 μm). Чистите първи (A) фракции се събират и разтворителят се изпарява, като се получават 3.3 g остатък, който кристализира от CH_3CN/DIPE. Утайката се отфилтрува и се суши, като се получават 2.55 g от (-)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-a]хиназолин-7-метанамин (съединение 1); $[\alpha]_D^{20}$ = -7.16° (c = 5 mg/ml MeOH); т.т. 178-180°C;

1H-ЯМР (DMSO, 400 MHz) δ в ppm: 8.73 (d, J=8.6 Hz, 1H), 8.38 (dd, J=8.6 Hz, J=1.5 Hz, 1H); 7.74-7.67 (m, 3H); 7.64 (s, 1H); 7.62-7.56 (m, 2H); 7.40 (d, J=8.6 Hz, 2H); 7.21 (d, J=8.6 Hz, 2H); 5.93 (s, 1H), 3.43 (s, 3H); 3.40 (s, br, 2H);

MS (електропулверизатор, mode pos. OR=50V) m/z: 501-505 (M+H)+; 473-477, 391-395, 83;

Анализ ($C_{25}H_{18}Cl_2N_8$)

Изчислено: C, 59.89; H, 3.62; N, 22.35;

Намерено: C, 59.71; H, 3.52; N, 22.17.

Това съединение съдържа под 0.5% т./т. от (+) енантиомера, определено чрез BETX (Chiralpak AD® 10 μm; елуент: хексан/етанол 50/50).

Вторите (B) фракции се събират и разтворителят се изпарява, като се получават 3.3 g остатък, който кристализира от CH_3CN/DIPE. Утаиката се отфилтрува и се суши, като се получават 2.6 g от (+)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-a]хиназолин-7-метанамин (съединение 2); $[\alpha]_D^{20}$ = +5.9° (c = 5 mg/ml MeOH). Това съединение съдържа 4% т./т. от (-) енантиомера, определено чрез BETX (Chiralpak AD® 10 μm; елуент: хексан/етанол 50/50).

C. Фармакологичен пример

Пример C.1: "*In vitro* изследване за инхибиране на фарнезилпротеинтрансфераза"

"*In vitro*" изследване за инхибиране на фарнезилпротеинтрансфераза се осъществява по същество, както е описано в WO 98/40383, стр. 33-34.

Пример C.2: "Реверсионно изследване на *ras*-трансформиран клетъчен фенотип"

Реверсионното изследване на *ras*-трансформиран клетъчен фенотип се провежда по същество, както е описано в WO 98/40383, стр. 34-36.

Пример С.3: "Вторичен туморен модел на инхибитор на фарнезилпротеинтрансфераза"

Вторичният туморен модел на инхибитор на фарнезилпротеинтрансфераза се използва както е описано в WO 98/40383, стр. 37.

D. Пример за състав: таблетки с филмово покритие

Получаване на ядрото (сърцевината) на таблетката

Смес от 100 g ог съединението съгласно изобретението, 570 g лактоза и 200 g нишесте се разбърква добре и след това се умокря с разтвор от 5 g натриев додецилсулфат и 10 g поливинилпиролидон в около 200 ml вода. Влажната прахообразна смес се пресява, суши се и се пресява отново. След това, към нея се добавят 100 g микрокристална целулоза и 15 g хидрогенирано растително масло. Цялата смес се разбърква добре и се пресова в таблетки, като се получават 10.000 таблетки, всяка от тях съдържаща 10 mg от съединение с формула (I).

Покритие

Към разтвор на 10 g метилцелулоза в 75 ml денатуриран етанол се добавя разтвор на 5 g етилцелулоза в 150 ml дихлорометан. След това се добавят 75 ml дихлорометан и 2.5 ml 1,2,3-пропантриол. 10 g полиетиленгликол се стапя и се разтваря в 75 ml дихлорометан. Последният разтвор се добавя към първия и след това се добавят 2.5 g магнезиев октадеканоат, 5 g поливинилпиролидон и 30 ml концентрирана цветна суспензия и всичко се хомогенизира. Ядрата на таблетките се покриват с така получената смес в апарат за нанасяне на покритие.

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. (-)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-а]хиназолин-7-метанамин и негови фармацевтично приемливи присъединителни с киселина соли.

2. (-)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-а]хиназолин-7-метанамин

3. Фармацевтичен състав, характеризиращ се с това, че съдържа фармацевтично приемлив носител и като активен ингредиент терапевтично ефективно количество от съединение съгласно претенция 1.

4. Фармацевтичен състав съгласно претенция 3, характеризиращ се с това, че активният ингредиент е съединението съгласно претенция 2.

5. Фармацевтичен състав съгласно претенция 3 или 4, характеризиращ се с това, че е в единична дозирана форма.

6. Фармацевтичен състав съгласно претенция 5, характеризиращ се с това, че съдържа 50 до 300 mg активен ингредиент във всяка единична дозирана форма.

7. Фармацевтичен състав съгласно претенция 5 или 6, характеризиращ се с това, че е в таблетна форма.

8. Метод за получаване на фармацевтичен състав съгласно всяка претенция от 3 до 7, характеризиращ се с това, че терапевтично ефективно количество от активния ингредиент се смесва интимно с фармацевтично приемлив носител.

9. Съединение съгласно претенция 1 или 2 за използване в медицината.

10. Използване на съединение съгласно претенция 1 или 2 в производството на лекарство за инхибиране на туморно развитие.

11. Метод за инхибиране на туморно развитие у пациент, характеризиращ се с това, че включва прилагане на ефективно количество от съединение съгласно претенция 1 или 2 към пациента.

12. Метод съгласно претенция 11, характеризиращ се стова, че съединението се прилага в дневна доза от 10 до 600 mg.

13. Метод съгласно претенция 12, характеризиращ се стова, че съединението се прилага в дневна доза от 50 до 500 mg.

14. Метод за получаване на съединение съгласно претенция 1 или 2, характеризиращ се стова, че включва обработване на (±)-5-(3-хлорофенил)-α-(4-хлорофенил)-α-(1-метил-1*H*-имидазол-5-ил)тетразоло[1,5-a]хиназолин-7-метанамин или на негова фармацевтично приемливи присъединителна с киселина сол за разделяне на съставните (+) и (-) енантиомери и изолиране на (-) енантиомера или на негова фармацевтично приемлива присъединителна с киселина сол.