



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. 04-52108

54. TÍTULO "Combinación farmacéutica"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE Pfizer Inc.

DOMICILIO 235 East, 42nd Street, New York NY 10017 E.U.A

74. APODERADO Quirós & Alarte

22. BOGOTÁ, D. C., Junio 3 2004

OLARTE RAISBECK

04/70.

2



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicación : 04052105 00000000 Folios: 73
 Fecha (HUB): 2004-06-03 17:04:36
 Trámite : 011 PCT-POTENT 179 FASE INCI 411 PRESENTAC
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
 (71)**

Nombre: PFIZER INC

Dirección: 235 East 42nd Street, New York, NY
 10017 E.U.A.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE
Lugar de Constitución: Delaware, Estados
 Unidos de América.

Teléfono: _____ **Fax:** _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

**REPRESENTANTE
 O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
 Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

**INVENTOR (ES)
 (72)**

Nombre: MICHAEL YEADON.

Dirección: Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ Reino Unido.

Nacionalidad o Domicilio: BRITANICA

3

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB02/05057

Fecha Noviembre 28, 2002

Publicación Internacional No. WO 03/047598

Fecha Junio 12, 2003

4

Título (54) COMBINACION FARMACEUTICA.

Clasificación Internacional (51) A61K 31/70, C07H 19/16.

Prioridad

SI

☒

N

☐

(33) País de Origen

GB

(32) Fecha

Diciembre 6, 2001

(31) Número de Solicitud

0129270.50

5

Comprobante de pago No. 3,981

Fecha Junio 3, 2004



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. 04-52108

54. TÍTULO "Combinación farmacéutica"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE Pfizer Inc.

DOMICILIO 235 East, 42nd Street, New York NY 10017 E.U.A

74. APODERADO Quirós & Alarte

22. BOGOTÁ, D. C., Junio 3 2004

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☒

Documento de cesión del Interventor 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 Internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar Internacional 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 12 x 12.

☐

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.

☐

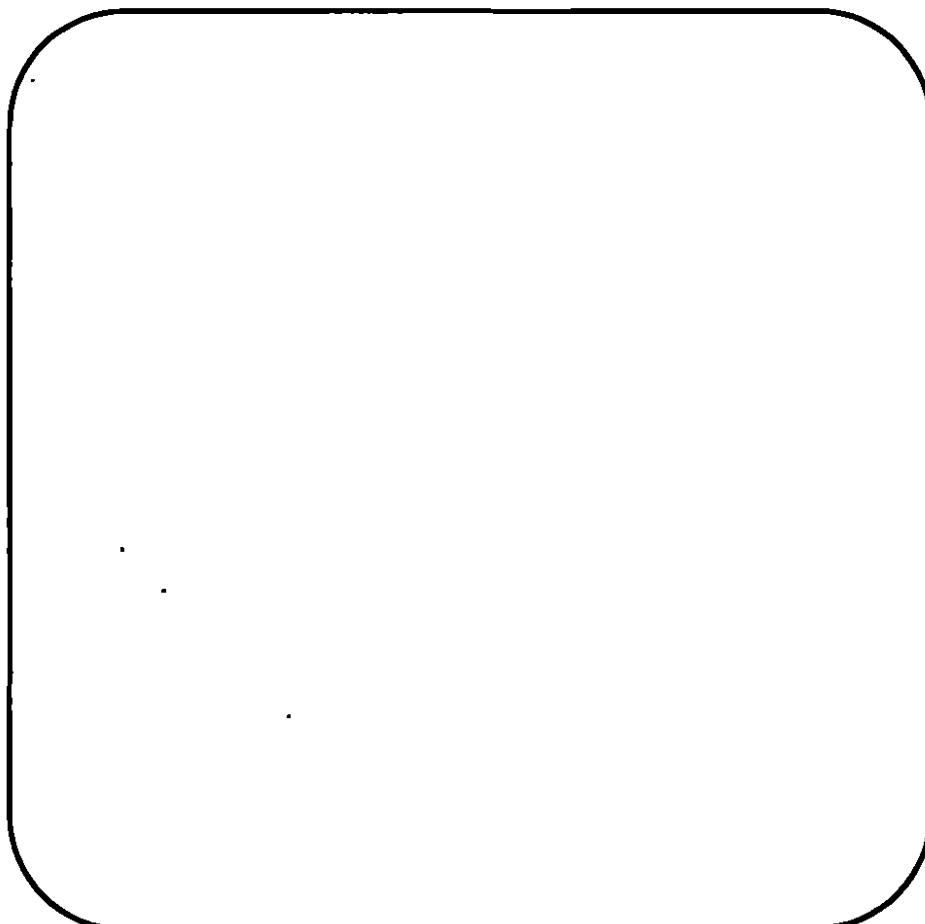
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

3

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 04052106 00000000 Folios: 73
Fecha (MM): 2004-06-03 17:04:36
Trámite : 011 PCT-PATENT 279 FASE NACI 411 PRESENTAR
Dependencia: 8020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 43,981
FECHA : JUNIO 3 DE 2004

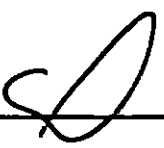
***** COMBIBNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
FREDERICK TORRES	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	21261189	02/03/2004	3,865,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 5 05-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SOM: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE

PFIZER INC.

Bilingüe inglés- español otorgado en Nueva York, Estados Unidos el 14 de julio de 2003 y firmado por J. Trevor Lumb, Vicepresidente de Pfizer Products Inc.

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 14 de julio de 2003 el suscrito notario Kenneth Greenwood certifica que J. Trevor Lumb, domiciliado en Nueva York ejercía funciones de Asistente General Consejero de Patentes la Compañía Pfizer Inc., con sede en Nueva York, Nueva York, Estados Unidos.

Firma del notario: Kenneth Greenwood

Sello notarial: certificado, verificado y autenticado en la Localidad de Egham en Surrey, 14 julio, 2003 por el Notario Kenneth Greenwood-Horne Engall & Freeman

Sello Notario Público en alto relieve rojo.

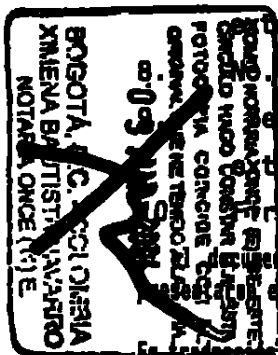
APOSTILLA

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País :Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Este documento Público
2. ha sido firmado por K. Greenwood
3. ejerce funciones de Notario Público
4. Lleva el sello de dicho Notario Público

CERTIFICADO

5. En Londres 6. El 17 de julio de 2003
7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos Exteriores y de la mancomunidad
G210434
Sello del Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos Exteriores y de la mancomunidad
Firma de R. Bawden - Por Secretario de Estado
Este documento se usa en un país que no es parte de la convención de la Haya del 5 de octubre 1961, debe ser usado en la sección consular de la misión que representa el país.



Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 25 de julio-2003. Marlén Neira C

Marlén Neira C
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 17 de julio de 2003

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 Piso 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE +57-1 638-6200
FAX +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

235 East 42nd Street, New York, NY 10017 USA

by means of these presents hereby grants to Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck and Ana María Frieri full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

Pfizer Inc.

domiciliado en

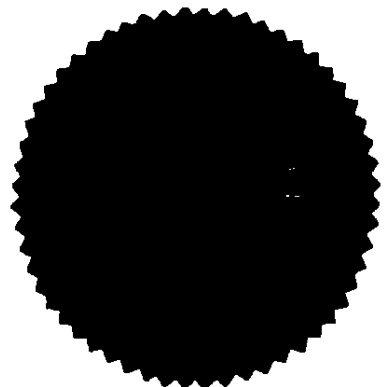
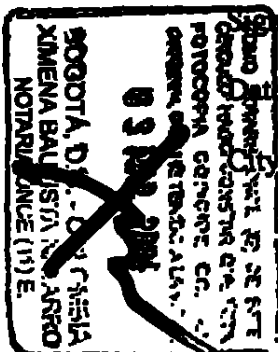
235 East 42nd Street, New York, NY 10017 USA

por medio del presente otorga a Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck y Ana María Frieri poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma: 

Date/Fecha: July 14, 2003

City/Country/Ciudad, País: New York, USA



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE +57-1 638-6200
FAX +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Notarial Certification

On this date,
July 14, 2003

The undersigned Notary Public certifies:

1. That *J. Trevor Lumb*
of legal age and domiciled in *New York, USA*
signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Assistant General Patent Counsel of Pfizer Inc.

3. That Pfizer Inc.,
having its principal place of business located in New York, New York, U.S.A.
is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the Power of Attorney and that his/her representation is legal.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):

Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que
J. Trevor Lumb
mayor de edad y domiciliado
en New York
suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de
de

4. Que
con sede principal ubicada en

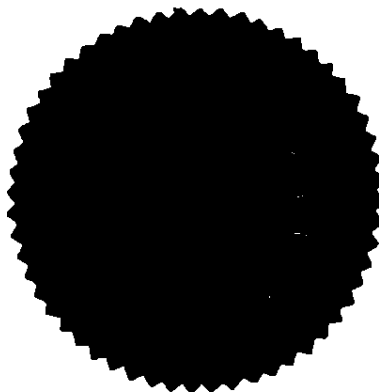
está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):



EXECUTION
Certified, Verified and Authenticated
In The City Of Bogota, In Surrey
This 14th Day Of July
2003
KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC
HONNE B. GALLOWAY AND FREEMAN



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 K Greenwood
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
6. the/le 17 July 2003

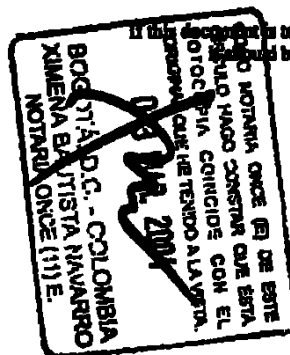
3. at London/à Londres
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/ous No **G210434**

9. Stamp:
timbre:
10. Signature: R. Rawden



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.

CESION

Por contraprestación valiosa pagada a nosotros por PFIZER LIMITED., sociedad constituida en virtud de las leyes del Inglaterra cuya dirección postal completa es Ramsgate Road, Sándwich, Kent CT13 9NJ, Reino Unido, por el presente vendemos y traspasamos a la citada PFIZER LIMITED, todo nuestro derecho, título e interés en y sobre nuestro invento de una nueva y útil mejora en COMBINACION FARMACEUTICA, en cuanto respecta a la República de Colombia, tal como se indica y describe plenamente en la especificación y por el presente autorizamos y solicitamos al Comisionado de Patentes de Colombia expedir dicha patente a nombre de la citada PFIZER LIMITED, de conformidad con esta Cesión.

En fe de lo cual, firmamos de nuestro puño y letra,

(Fdo) Michael Yeadon

Lugar, fecha y firma - Michael Yeadon

Sándwich, Kent, England - 27 Septiembre 2002

Certificado, verificado y autenticado
En la ciudad de Egham en Surrey

A los 2 días del mes de octubre de 2002

(Fdo) Kenneth Greenwood

KENNETH GREENWOOD
NOTARIO PUBLICO
HORNE ENGALL AND FREEMAN

(Adherido, sello notarial)

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte

Este es documento público

2. Ha sido firmado por K. Greenwood

3. Actuando en calidad de Notario Público

4. Lleva el sello/estampilla de El antedicho Notario Público

5. En Londres Certificado
6. El 03 de Octubre de 2002

7. Por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y de la Mancomunidad.

8. Número G033281

9. Sello/Estampilla 10. Firma

(Sello de la Oficina de
Asuntos Exteriores y de la
Mancomunidad

(Fdo) J.M.A. Mason
Por el secretario de Estado.

CESION

Por contraprestación valiosa pagada a nosotros por PFIZER INC, sociedad constituida en virtud de las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América, cuya dirección postal completa es 235 East 42nd Street, NewYork, New Cork 10017, Estados Unidos de América, por el presente vendemos y traspasamos a la citada PFIZER INC, todo nuestro derecho, título e interés en y sobre nuestro invento de una nueva y útil mejora en COMBINACION FARMACEUTICA, en cuanto respecta a la República de Colombia, tal como se indica y describe plenamente en la especificación y por el presente autorizamos y solicitamos al Comisionado de Patentes de Colombia expedir dicha patente a nombre de la citada PFIZER INC, de conformidad con esta Cesión.

En fe de lo cual, firmamos de nuestro puño y letra,

PFIZER LIMITED

(Fdo) David J. Wood

Lugar, fecha y firma – DAVID J. WOOD Director Departamento de Patentes UK

Sándwich, Kent, England – 27 Septiembre 2002

**Certificado, verificado y autenticado
En la ciudad de Egham en Surrey**

A los 2 días del mes de octubre de 2002

(Fdo) Kenneth Greenwood

**KENNETH GREENWOOD
NOTARIO PUBLICO
HORNE ENGALL AND FREEMAN**

(Adherido, sello notarial)

10

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de Octubre de 1961)

2. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte

Este es documento público

2. Ha sido firmado por K. Greenwood

3. Actuando en calidad de Notario Público

4. Lleva el sello/estampilla de El antedicho Notario Público

5. En Londres **Certificado**
6. El 03 de Octubre de 2002

7. Por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y de la Mancomunidad.

8. Número G033282

9. Sello/Estampilla **10. Firma**

**(Sello de la Oficina de
Asuntos Exteriores y de la
Mancomunidad**

**(Fdo) J.M.A. Mason
Por el secretario de Estado.**

ASSIGNMENT

For valuable consideration paid to me (us) by **PFIZER LIMITED** a corporation organized under the laws of England whose full post office address is **Ramsgate Road, Sandwich, Kent, CT13 9NJ, United Kingdom**, I (we) do hereby sell and assign to the said **PFIZER LIMITED**, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in **PHARMACEUTICAL COMBINATION** so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said **PFIZER LIMITED** in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

Michael Yeaton

Sandwich, Kent, England. 27 September 2002 - Michael YEADON

EXECUTION
Certified, Verified and Authenticated
In the Town Of Egham In Surrey

This 2nd Day Of October 2002

KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC
HORNE ENGALL AND FREEMAN



9574

12

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 **K Greenwood**
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

5. at London/à Londres
- Certified/Attesté
6. the/le 03 October 2002
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 **G033281**

9. Stamp:
timbre:

10. Signature: **J. M. A. Mason**



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.

ASSIGNMENT

12
13

For valuable consideration paid to me (us) by PFIZER INC., a corporation organized under the laws of the State of Delaware, United States of America of 235 East 42nd Street, New York, New York 10017, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said PFIZER INC., all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in

PHARMACEUTICAL COMBINATION

so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said PFIZER INC. in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

PFIZER LIMITED

Sandwich, Kent, England.
PATENT DEPARTMENT

2.5.129
27 September 2002 - DAVID J. WOOD, EXECUTIVE DIRECTOR, UK

EXECUTION
Certified Valid and Authenticated
In The Town Of Egham In Surrey

This *2nd* Day Of *October* 2002

KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC
HORNE ENGALL AND FREEMAN



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

14

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 K Greenwood**
a été signé par
3. **Acting in the capacity of Notary Public**
agissant en qualité de
4. **Bears the seal/stamp of The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté

5. **at London/à Londres**

6. the/le 03 October 2002

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 G033282**

9. **Stamp:**
timbre:

10. **Signature: J. M. A. Mason**



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.**

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
12 June 2003 (12.06.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/047598 A1

- (51) International Patent Classification⁷: A61K 31/70, C07H 19/16 (74) Agents: RUDDOCK, Keith, S. et al.; Pfizer Limited, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB).
- (21) International Application Number: PCT/IB02/05057 (81) Designated States (*national*): AL, 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, GI, GM, GR, GU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PA, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (22) International Filing Date:
28 November 2002 (28.11.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
0129270.5 6 December 2001 (06.12.2001) GB
- (71) Applicant (*for GB only*): PFIZER LIMITED (GB/GB); Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB).
- (71) Applicant (*for all designated States except GB, US*): PFIZER INC. (US/US); 235 East 42nd Street, New York, NY 10017 (US).
- (72) Inventor: and
- (75) Inventor/Applicant (*for US only*): YEADON, Michael (GB/GB); Pfizer Global Research and Development, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB).
- (84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CI, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMBINATIONS OF ADENOSINE A_{2A} AND BETA-2-ADRENERGIC RECEPTOR AGONISTS

(57) Abstract: The present invention relates to a combination comprising (a) an adenosine A_{2A} receptor agonist as defined herein and (b) an adrenergic β ₂ receptor agonist, for simultaneous, sequential or separate administration by the inhaled route in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.

WO 03/047598 A1

16

PHARMACEUTICAL COMBINATIONS OF ADENOSINE A_{2A} AND BETA-2-ADRENERGIC RECEPTOR AGONISTS

The present invention relates to an inhaled combination of an adenosine A_{2A} receptor agonist and an adrenergic β 2 receptor agonist, to pharmaceutical compositions, including devices for administering, and to the uses of such a combination.

A combination of an adenosine A_{2A} receptor agonist and an adrenergic β 2 receptor agonist is useful in the treatment of obstructive airways and other inflammatory diseases, particularly the obstructive airways diseases asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and other obstructive airways diseases exacerbated by heightened bronchial reflexes, inflammation, bronchial hyper-reactivity and bronchospasm.

Examples of particular diseases that may be treated with the present invention include the respiratory diseases asthma, acute respiratory distress syndrome, chronic pulmonary inflammatory disease, bronchitis, chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary (airway) disease and silicosis and diseases of the immune system such as allergic rhinitis and chronic sinusitis.

20

Adenosine has a wide range of physiologic activities, including immune and inflammatory responses, which are receptor-mediated and involve interaction with at least four types of plasma membrane receptors. These receptors are commonly referred to as A₁, A_{2A}, A_{2B}, and A₃. Adenosine and its analogs have been found to possess a broad spectrum of anti-inflammatory activity that involves a significant variety of immune and inflammatory cells, including neutrophils and eosinophils. Activation of the A_{2A} receptors on neutrophils results in the suppression of the production of reactive oxidants and other mediators of inflammation such as elastase by these cells, as well as decreased expression of β ₂-integrins.

30

A_{2A} receptors are known to exist on lymphocytes, neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes/macrophages, epithelial cells, and on the vascular

endothelial tissue with which they interact. Adenosine binding to A_{2a} receptors can decrease inflammation by influencing the activities of a number of these cell types. For example, A_{2a} receptor agonists markedly inhibit oxidative species elicited by physiologic stimulants such as neutrophil chemoattractants, cytokines, and lipid products.

Occupancy of adenosine A_{2a} receptors stimulates neutrophil adenylyl cyclase, which results in an increase in intracellular cyclic AMP. In turn, increased neutrophil cyclic AMP results in depression of stimulated-neutrophil oxidative activity. Through a related action on a variety of other inflammatory cell types, the anti-inflammatory properties of A_{2a} agonists extends beyond inhibitory activities on neutrophils. Adenosine also decreases endotoxin-stimulated monocyte/macrophage $TNF\alpha$ release, and it has been observed that endogenous adenosine as well as adenosine analogs reduce human monocyte $TNF\alpha$ production by binding to adenosine A_{2a} receptors.

Endotoxin-stimulated release of Interleukin-6 (IL-6) and Interleukin-8 (IL-8) is decreased by adenosine analogs with an order of potency that suggests A_{2a} adenosine receptor activity. Interleukin-10 (IL-10) has anti-inflammatory activity as a result of its ability to decrease endotoxin-stimulated $TNF\alpha$ release from monocytes, to inhibit oxidative activity, and to lower the expression of leukocyte adhesion molecules. Adenosine enhances stimulated human monocyte production of IL-10; consequently, the binding of adenosine at A_{2a} receptors promotes resolution of any on-going inflammatory response that may be involved.

Activated eosinophils transmigrate into tissues and cause cellular damage and inflammation in such diseases as allergic and non-allergic asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. Adenosine and adenosine A_{2a} receptor agonist analogs, by binding to A_{2a} receptors on eosinophils, inhibit stimulated release of reactive oxygen species, a response which parallels the inhibitory effect of A_{2a} receptors on neutrophils.

15
17

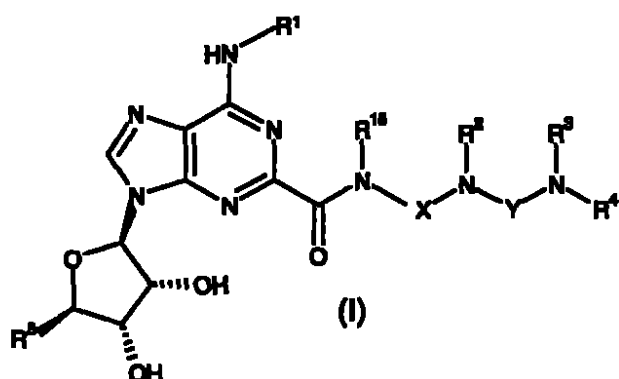
Further, inhaled A_{2a} agonists inhibit the recruitment of eosinophils into lungs of sensitised guinea-pigs via action in the lungs (see WO-A-99/67263). This is important as A_{2a} agonists relax blood vessels and lower blood pressure in animals thus the anti-inflammatory action of A_{2a} agonists is ideally produced by an inhaled agent which has a high therapeutic index for activity in the lung compared with the peripheral compartment.

Adrenergic β receptors occur in the sympathetic nervous system. There are at least two types. Adrenergic β_1 receptors are found in the heart and play a major role in regulating heart rate via the action of the agonists epinephrine and norepinephrine. Adrenergic β_2 receptors are present on a number of cell types in the lung (e.g. airway smooth muscle cells, epithelial cells, and a variety of inflammatory cells) and adrenergic β_2 receptor agonists are effective bronchodilators, causing the relaxation of airway smooth muscle. Sympathomimetic amines have a long history of use in the treatment of chronic airway diseases characterised by partially reversible airway narrowing such as COPD and asthma and were first used as bronchodilators in the form of intravenous epinephrine. Later, inhaled β -adrenergic agents such as isoprenaline were used which were relatively non-selective for β_2 over β_1 receptors and thus caused tachycardia at effective bronchodilator doses. More recently, inhaled β -adrenergic agents such as salbutamol have been used which are more selective for the β_2 receptor but short-acting. Inhaled β -adrenergic agents formoterol and salmeterol are both selective and long-acting.

It has now been surprisingly found that combinations of particular adenosine A_{2a} receptor agonists and adrenergic β_2 receptor agonists offer significant benefits in the treatment of obstructive airways and other inflammatory diseases over treatment with either agent alone and over other known combinations. The advantage of the combination is to provide optimal control of airway calibre through the mechanism most appropriate to the disease pathology, namely adrenergic β_2 receptor agonism, together with effective suppression of inappropriate inflammation. In this way, symptoms of the disease are controlled

by correcting inappropriate airway neural reflexes which drive cough, mucus production and dyspnea. By delivering both an adrenergic β_2 receptor agonist and an A_{2a} agonist via the inhaled route, the benefits of each class are realised without the unwanted peripheral effects. Further, the particular combinations of the present invention result in unexpected synergy, producing greater efficacy than maximally tolerated doses of either class of agent used alone.

The invention therefore provides an inhaled combination of (a) an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula



10

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, wherein

R^1 is H, C_1 - C_6 alkyl or fluorenyl, said C_1 - C_6 alkyl being optionally substituted by 1 or 2 substituents each independently selected from phenyl and naphthyl, said phenyl and naphthyl being optionally substituted by C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 alkoxy, halo or cyano;

(A) R^2 is H or C_1 - C_6 alkyl, R^{15} is H or C_1 - C_6 alkyl, and X is either (i) unbranched C_2 - C_3 alkylene optionally substituted by C_1 - C_6 alkyl or C_3 - C_6 cycloalkyl, or (ii) a group of the formula:

20



where W is C_5 - C_7 cycloalkylene optionally substituted by C_1 - C_6 alkyl, n is 0 or 1 and p is 0 or 1, or

25

18

(B) R^{15} is H or C_1-C_8 alkyl, and R^2 and X, taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidin-3-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C_1-C_8 alkyl, or

- 5 (C) R^2 is H or C_1-C_8 alkyl, and R^{15} and X, taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidin-3-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C_1-C_8 alkyl;

- 10 either, R^3 and R^4 , taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidiny, pyrrolidiny, piperidiny, piperaziny, homopiperidiny or homopiperaziny, each being optionally substituted on a ring nitrogen or carbon atom by C_1-C_8 alkyl or C_3-C_8 cycloalkyl and optionally substituted on a ring carbon atom not adjacent to a ring nitrogen atom by $-NR^6R^7$,

15

or, R^3 is H, C_1-C_8 alkyl, C_3-C_8 cycloalkyl or benzyl and R^4 is

(a) azetidin-3-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C_1-C_8 alkyl, C_3-C_8 cycloalkyl, phenyl, benzyl or het, or

- 20 (b) $-(C_2-C_8 \text{ alkylene})-R^8$,
(c) $-(C_1-C_8 \text{ alkylene})-R^{13}$, or
(d) C_1-C_8 alkyl or C_3-C_8 cycloalkyl;

R^5 is CH_2OH or $CONR^{14}R^{14}$;

25

R^6 and R^7 are either each independently H or C_1-C_8 alkyl or, taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidiny, pyrrolidiny or piperidiny, said azetidiny, pyrrolidiny and piperidiny being optionally substituted by C_1-C_8 alkyl;

30

R^8 is (i) azetidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, piperidin-1-yl, morpholin-4-yl, piperazin-1-yl, homopiperidin-1-yl, homopiperazin-1-yl or tetrahydroisoquinolin-1-yl, each being optionally substituted on a ring carbon atom by C_1-C_8 alkyl, C_3-C_8

- cycloalkyl, phenyl, C₁-C₆ alkoxy-(C₁-C₆)-alkyl, R⁹R⁹N-(C₁-C₆)-alkyl, fluoro-(C₁-C₆)-alkyl, -CONR⁹R⁹, -COOR⁹ or C₂-C₆ alkanoyl, and optionally substituted on a ring carbon atom not adjacent to a ring nitrogen atom by fluoro-(C₁-C₆)-alkoxy, halo, -OR⁹, cyano, -S(O)_mR¹⁰, -NR⁹R⁹, -SO₂NR⁹R⁹, -NR⁹COR¹⁰ or -NR⁹SO₂R¹⁰, and
- 5 said piperazin-1-yl and homopiperazin-1-yl being optionally substituted on the ring nitrogen atom not attached to the C₂-C₆ alkylene group by C₁-C₆ alkyl, phenyl, C₁-C₆ alkoxy-(C₂-C₆)-alkyl, R⁹R⁹N-(C₂-C₆)-alkyl, fluoro-(C₁-C₆)-alkyl, C₂-C₆ alkanoyl, -COOR¹⁰, C₃-C₆ cycloalkyl, -SO₂R¹⁰, -SO₂NR⁹R⁹ or -CONR⁹R⁹, or
- (ii) NR¹¹R¹²;

10

R⁹ is H, C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl or phenyl;

R¹⁰ is C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl or phenyl;

- 15 R¹¹ is H, C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl or benzyl;

R¹² is H, C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, phenyl, benzyl, fluoro-(C₁-C₆)-alkyl, -CONR⁹R⁹, -COOR¹⁰, C₂-C₆ alkanoyl or -SO₂NR⁹R⁹;

- 20 R¹³ is (a) phenyl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl or pyridin-4-yl, each being optionally substituted by C₁-C₆ alkyl, C₁-C₆ alkoxy, -(C₁-C₃ alkylene)-(C₁-C₆ alkoxy), halo, cyano, -(C₁-C₃ alkylene)-CN, -CO₂H, -(C₁-C₃ alkylene)-CO₂H, -CO₂(C₁-C₆ alkyl), -(C₁-C₃ alkylene)-CO₂(C₁-C₆ alkyl), -(C₁-C₃ alkylene)-NR¹⁴R¹⁴, -CONR¹⁴R¹⁴ or -(C₁-C₃ alkylene)-CONR¹⁴R¹⁴, or (b) azetidin-2-yl, azetidin-3-yl, pyrrolidin-2-yl,
- 25 pyrrolidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-2-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, phenyl, benzyl or het;

R¹⁴ is H or C₁-C₆ alkyl optionally substituted by cyclopropyl;

30

m is 0, 1 or 2;

Y is CO, CS, SO₂ or C=N(CN); and

19

"het", used in the definition of R^4 and R^{13} , is a C-linked, 4- to 6-membered ring, heterocycle having either from 1 to 4 ring nitrogen heteroatoms or 1 or 2 nitrogen ring heteroatoms and 1 oxygen or 1 sulphur ring heteroatom, optionally substituted by C_1-C_6 alkyl, C_3-C_6 cycloalkyl, C_1-C_6 alkoxy, C_3-C_6 cycloalkoxy, hydroxy, oxo or halo;

and (b) an adrenergic β_2 receptor agonist.

- 10 Further, the invention provides an inhaled combination comprising (a) an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined above and (b) an adrenergic β_2 receptor agonist, for use as a medicament.

Further, the invention provides a combination comprising (a) an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined above and (b) an adrenergic β_2 receptor agonist, for simultaneous, sequential or separate administration by the inhaled route in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.

- 20 Further, the invention provides a pharmaceutical composition comprising an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined above, an adrenergic β_2 receptor agonist and a pharmaceutically acceptable excipient, diluent or carrier, for administration by the inhaled route in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.

25 Further, the invention provides the use of an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined above, or an adrenergic β_2 receptor agonist, in the manufacture of a medicament for simultaneous, sequential or separate administration of both agents by the inhaled route in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.

- 30 obstructive airways or other inflammatory disease.

Further, the invention provides a method of treating of an obstructive airways or other inflammatory disease comprising administering simultaneously,

sequentially or separately, by the inhaled route, to a mammal in need of such treatment, an effective amount of an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined above and an adrenergic β_2 receptor agonist.

- 5 Further, the invention provides an inhalation device for simultaneous, sequential or separate administration of an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined above and an adrenergic β_2 receptor agonist, in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.
- 10 The preparation of a compound of the formula (I) is described in International Patent Application number PCT/IB01/00973, published as WO-A-01/94368.

Preferred adenosine A_{2a} receptor agonists for use in the invention include 6-
 [(2,2-diphenylethyl)amino]-9-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*S*)-5-[(ethylamino)carbonyl]-3,4-
 15 dihydroxytetrahydro-2-furanyl]-*N*-{2-[[[1-(2-pyridinyl)-4-piperidinyl]amino]carbonyl]amino]ethyl}-9*H*-purine-2-carboxamide (Examples 8 and 35 of WO-A-01/94368) and the pharmaceutically acceptable salts and solvates thereof.

- 20 Preferably, an adrenergic β_2 receptor agonist used in a combination according to the invention is a selective adrenergic β_2 receptor agonist, i.e. has a greater affinity for the adrenergic β_2 receptor than all other known adrenergic β receptors. Preferably, the affinity of such a selective adrenergic β_2 receptor agonist is at least 100 fold greater for the adrenergic β_2 receptor as compared
 25 with its affinity for the other adrenergic β receptors.

Preferred adrenergic β_2 receptor agonists for use in the invention include salmeterol, formoterol and the pharmaceutically acceptable salts and solvates thereof.

30

Specific preferred combinations of an adenosine A_{2a} -receptor agonist and an adrenergic β_2 receptor agonist for use in the invention include:

18
20

6-[(2,2-diphenylethyl)amino]-9-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*S*)-5-[(ethylamino)carbonyl]-3,4-dihydroxytetrahydro-2-furanyl)-*N*-(2-[[[1-(2-pyridinyl)-4-piperidinyl]amino]carbonyl]amino]ethyl)-9*H*-purine-2-carboxamide, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof and salmeterol, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof; and

6-[(2,2-diphenylethyl)amino]-9-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*S*)-5-[(ethylamino)carbonyl]-3,4-dihydroxytetrahydro-2-furanyl)-*N*-(2-[[[1-(2-pyridinyl)-4-piperidinyl]amino]carbonyl]amino]ethyl)-9*H*-purine-2-carboxamide, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof and formoterol, or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.

An adenosine A_{2a} receptor agonist or adrenergic β₂ receptor agonist used in accordance with the invention may optionally be utilised in the form of a pharmaceutically acceptable salt or solvate. Such a salt may be an acid addition or a base salt.

Suitable acid addition salts are formed from acids which form non-toxic salts and examples are the hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, sulphate, bisulphate, nitrate, phosphate, hydrogen phosphate, acetate, maleate, fumarate, lactate, tartrate, citrate, gluconate, succinate, saccharate, benzoate, methanesulphonate, ethanesulphonate, benzenesulphonate, *p*-toluenesulphonate and pamoate salts.

Suitable base salts are formed from bases which form non-toxic salts and examples are the sodium, potassium, aluminium, calcium, magnesium, zinc and diethanolamine salts.

For a review on suitable salts see Berge *et al.*, J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977.

The pharmaceutically acceptable solvates of the adenosine A_{2a} receptor agonists and adrenergic β₂ receptor agonists used in accordance with the invention, or salts thereof, include the hydrates thereof.

The adenosine A_{2a} receptor agonists and adrenergic β 2 receptor agonists of the invention may exist in one or more polymorphic forms.

The adenosine A_{2a} receptor agonists and adrenergic β 2 receptor agonists of the invention may contain one or more asymmetric carbon atoms and therefore exists in two or more stereoisomeric forms (e.g. R, R' formoterol is a preferred embodiment). Where such an agonist contains an alkenyl or alkenylene group, cis/trans (or Z/E) isomerism may also occur. The present invention includes these individual stereoisomers of the compounds of the invention and, where appropriate, the individual tautomeric forms thereof, together with mixtures thereof.

Separation of diastereoisomers or cis and trans isomers may be achieved by conventional techniques, e.g. by fractional crystallisation, chromatography or H.P.L.C. of a stereoisomeric mixture of a compound of the invention or a suitable salt or derivative thereof. An individual enantiomer of a compound of the invention may also be prepared from a corresponding optically pure intermediate or by resolution, such as by H.P.L.C. of the corresponding racemate using a suitable chiral support or by fractional crystallisation of the diastereoisomeric salts formed by reaction of the corresponding racemate with a suitable optically active acid or base, as appropriate.

The present invention also includes all suitable isotopic variations of a compound of the invention or a pharmaceutically acceptable salt thereof. An isotopic variation of a compound of the invention or a pharmaceutically acceptable salt thereof is defined as one in which at least one atom is replaced by an atom having the same atomic number but an atomic mass different from the atomic mass usually found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of the invention and pharmaceutically acceptable salts thereof include isotopes of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, phosphorus, sulphur, fluorine and chlorine such as ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁷O, ¹⁸O, ³¹P, ³²P, ³³S, ¹⁸F and ³⁶Cl, respectively. Certain isotopic variations of the compounds of the invention and pharmaceutically acceptable salts thereof, for example, those in which a radioactive isotope such as ³H or ¹⁴C is incorporated,

21

are useful in drug and/or substrate tissue distribution studies. Triflated, i.e., ^3H , and carbon-14, i.e., ^{14}C , isotopes are particularly preferred for their ease of preparation and detectability. Further, substitution with isotopes such as deuterium, i.e., ^2H , may afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability, for example, increased *in vivo* half-life or reduced dosage requirements and hence may be preferred in some circumstances.

The types of diseases that may be treated using the combinations of the present invention include, but are not limited to, asthma, chronic or acute bronchoconstriction, chronic bronchitis, small airways obstruction, emphysema, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), COPD that has chronic bronchitis, pulmonary emphysema or dyspnea associated therewith and COPD that is characterised by irreversible, progressive airways obstruction.

15 Asthma

One of the most important respiratory diseases treatable with the combinations of therapeutic agents of the present invention is asthma, a chronic, increasingly common disorder encountered worldwide and characterized by intermittent reversible airway obstruction, airway hyper-responsiveness and inflammation. The cause of asthma has yet to be determined, but the most common pathological expression of asthma is inflammation of the airways, which may be significant even in the airways of patients with mild asthma. This inflammation drives reflex airway events resulting in plasma protein extravasation, dyspnea and bronchoconstriction. Based on bronchial biopsy and lavage studies it has been clearly shown that asthma involves infiltration by mast cells, eosinophils, and T-lymphocytes into a patient's airways. Bronchoalveolar lavage (BAL) in atopic asthmatics shows activation of interleukin (IL)-3, IL-4, IL-5 and granulocyte/macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) that suggests the presence of a T-helper 2 (Th-2)-like T-cell population.

30

The combinations of therapeutic agents of the present invention are useful in the treatment of atopic and non-atopic asthma. The term "atopy" refers to a genetic predisposition toward the development of type I (immediate) hypersensitivity

reactions against common environmental antigens. The most common clinical manifestation is allergic rhinitis, while bronchial asthma, atopic dermatitis, and food allergy occur less frequently. Accordingly, the expression "atopic asthma" as used herein is intended to be synonymous with "allergic asthma", *i.e.*,
5 bronchial asthma which is an allergic manifestation in a sensitized person. The term "non-atopic asthma" as used herein is intended to refer to all other asthmas, especially essential or "true" asthma, which is provoked by a variety of factors, including vigorous exercise, irritant particles, psychologic stresses, *etc.*

10 Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)

The combinations of therapeutic agents of the present invention are still further useful in the treatment of COPD or COAD including chronic bronchitis, pulmonary emphysema or dyspnea associated therewith. COPD is characterized by poorly reversible, progressive airways obstruction. Chronic
15 bronchitis is associated with hyperplasia and hypertrophy of the mucus secreting glands of the submucosa in the large cartilaginous airways. Goblet cell hyperplasia, mucosal and submucosal inflammatory cell infiltration, edema, fibrosis, mucus plugs and increased smooth muscle are all found in the terminal and respiratory bronchioles. The small airways are known to be a major site of
20 airway obstruction. Emphysema is characterized by destruction of the alveolar wall and loss of lung elasticity. A number of risk factors have also been identified as linked to the incidence of COPD. The link between tobacco smoking and COPD is well established. Other risk factors include exposure to coal dust and various genetic factors. See Sandford *et al.*, "Genetic risk factors
25 for chronic obstructive pulmonary disease," *Eur. Respir. J.* 10 1380-1391, 1997. The incidence of COPD is increasing and it represents a significant economic burden on the populations of the industrialized nations. COPD also presents itself clinically with a wide range of variation from simple chronic bronchitis without disability to patients in a severely disabled state with chronic respiratory
30 failure.

COPD is characterized by inflammation of the airways, as is the case with asthma, but the inflammatory cells that have been found in the bronchoalveolar

20
22

lavage fluid and sputum of patients are neutrophils and macrophages rather than eosinophils. Elevated levels of inflammatory mediators are also found in COPD patients, including IL-8, LTB₄, and TNF- α , and the surface epithelium and sub-epithelium of the bronchi of such patients has been found to be infiltrated by T-lymphocytes and macrophages. Symptomatic relief for COPD patients can be provided by the use of β -agonist and anticholinergic bronchodilators, but the progress of the disease remains unaltered. COPD has been treated using theophylline, but without much success, due in part to its propensity to produce unwanted effects. Steroids have also failed to hold out much promise as satisfactory treatment agents in COPD as they are relatively ineffective as anti-inflammatory agents.

Accordingly, the use of the combinations of therapeutic agents of the present invention to treat COPD and its related and included obstructed airways diseases, represents a significant advance in the art. The present invention is not limited to any particular mode of action or any hypothesis as to the way in which the desired therapeutic objectives have been obtained by utilizing the combinations of therapeutic agents of the present invention.

20 Bronchitis and Bronchiectasis

In accordance with the particular and diverse inhibitory activities described above that are possessed by the combinations of therapeutic agents of the present invention, they are useful in the treatment of bronchitis of whatever type, etiology, or pathogenesis, including, e.g., acute bronchitis which has a short but severe course and is caused by exposure to cold, breathing of irritant substances, or an acute infection; catarrhal bronchitis which is a form of acute bronchitis with a profuse mucopurulent discharge; chronic bronchitis which is a long-continued form of bronchitis with a more or less marked tendency to recurrence after stages of quiescence, due to repeated attacks of acute bronchitis or chronic general diseases, characterized by attacks of coughing, by expectoration either scanty or profuse, and by secondary changes in the lung tissue; dry bronchitis which is characterized by a scanty secretion of tough sputum; infectious asthmatic bronchitis which is a syndrome marked by the

development of symptoms of bronchospasm following respiratory tract infections in persons with asthma; productive bronchitis which is bronchitis associated with a productive cough.

- 5 The use of the combinations of therapeutic agents of the present invention to treat atopic asthma or non-atopic asthma, COPD or other chronic inflammatory airways diseases may be established and demonstrated by use of a number of different models known in the art of inhibition of reflex events in the airway including plasma extravasation and bronchospasmolytic models described
10 below.

Bronchodilator Activity - cAMP is involved not only in smooth muscle relaxation, but also exerts an overall inhibitory influence on airway smooth muscle proliferation, both of which may result from activation of A_{2a} receptors by a
15 component of the invention. Airway smooth muscle hypertrophy and hyperplasia can be modulated by cAMP, and these conditions are common morphological features of chronic asthma.

The use of the combinations of therapeutic agents of the present invention to
20 treat atopic asthma or non-atopic asthma, COPD or other chronic inflammatory airways diseases may be established and demonstrated by use of a number of different models known in the art including the models described below.

Bronchospasmolytic Activity *In Vitro* - The ability of the combinations of
25 therapeutic agents of the present invention to cause relaxation of guinea-pig tracheal smooth muscle is demonstrated in the following test procedure. Guinea-pigs (350-500 g) are killed with sodium pentothal (100 mg/kg i.p.). The trachea is dissected and a section 2-3 cm in length is excised. The trachea is transected in the transverse plane at alternate cartilage plates so as to give rings of tissue
30 3-5 mm in depth. The proximal and distal rings are discarded. Individual rings are mounted vertically on stainless steel supports, one of which is fixed at the base of an organ bath, while the other is attached to an isometric transducer. The rings are bathed in Krebs solution (composition μ M: NaHCO₃ 25; NaCl 113; KCl 4.7; MgSO₄·7H₂O 1.2; KH₂PO₄ 1.2; CaCl₂ 2.5; glucose 11.7) at 37°C and

21
23

gassed with O₂/CO₂ (95:5, v/v). Rings prepared in this manner are contracted by field stimulation. To ascertain spasmolytic activity, test combinations of therapeutic agents of the present invention are dissolved in physiological saline and added in increasing quantities to the organ bath at 5m intervals to provide a cumulative concentration-effect curve.

In the above test model, combinations of therapeutic agents of the present invention generally inhibit field stimulated contraction of guinea-pig tracheal ring preparations at concentrations in the range of from 0.001 to 1.0 μ M.

10

Relaxation of Human Bronchus - Samples of human lungs dissected during surgery for cancer are obtained within 3 days after removal. Small bronchi (inner diameter $\approx$ 2 to 5 mm) are excised, cut into segments and placed in 2 ml liquid nitrogen storage ampoules filled with fetal calf serum (FCS) containing 1.8M dimethylsulfoxide (DMSO) and 0.1M sucrose as cryoprotecting agents. The ampoules are placed in a polystyrol box (11 x 11 x 22 cm) and slowly frozen at a mean cooling rate of about 0.6°C/m in a freezer maintained at -70°C. After 3-15h the ampoules are transferred into liquid nitrogen (-196°C) where they are stored until use. Before use the tissues are exposed for 30-60m to -70°C before being thawed within 2.5m by placing the ampoules in a 37°C water bath. Thereafter the bronchial segments are rinsed by placing them in a dish containing Krebe-Henseleit solution (μ M: NaCl 118, KCl 4.7, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, glucose 11, EDTA 0.03) at 37°C, cut into rings and suspended in 10 ml organ baths for isometric tension recording under a preload of about 1g. Further increases in tension are induced via the application of field stimulation, which is known to induce activation of nerves in the airway sample and generate tension via release of acetylcholine and other neurally derived mediators. Concentration-response curves are produced by cumulative additions, each concentration being added when the maximum effect has been produced by the previous concentration. Papaverine (300 μ M) is added at the end of the concentration response curve to induce complete relaxation of the bronchial rings. This effect is taken as 100% relaxation.

In the above test model the combinations of therapeutic agents of the present invention generally produce concentration-related relaxation of human bronchus ring preparations at concentrations in the range of from 0.001 to 1.0 μM with preferred embodiments being active at concentrations in the range of from 5.0 nM to 500 nM.

Suppression of Capsaicin-Induced Bronchoconstriction - Male Dunkin-Hartley guinea-pigs (400-800g) having free access to food and water prior to the experiment, are anaesthetized with sodium phenobarbital (100 mg/kg i.p. [intra peritoneal]). Animals, maintained at 37°C with a heated pad, controlled by a rectal thermometer, are ventilated via a tracheal cannula (about 8 ml/kg, 1 Hz) with a mixture of air and oxygen (45:55 v/v). Ventilation is monitored at the trachea by a pneumotachograph connected to a differential pressure transducer in line with the respiratory pump. Pressure changes within the thorax are monitored directly via an intrathoracic cannula, using a differential pressure transducer so that the pressure difference between the trachea and thorax can be measured and displayed. From these measurements of air-flow and transpulmonary pressure, both airway resistance (R_1 cmH₂O/l/s) and compliance (Cd_{dyn}) are calculated with a digital electronic respiratory analyzer for each respiratory cycle. Blood pressure and heart rate are recorded from the carotid artery using a pressure transducer.

When values for basal resistance and compliance are stable, an acute episode of bronchoconstriction is induced by an intravenous bolus of capsaicin. Capsaicin is dissolved in 100% ethanol and diluted with phosphate buffered saline. Test combinations of therapeutic agents of the present invention are administered when the response to capsaicin is stable, which is calculated to be after 2-3 such administrations at 10 min intervals. Reversal of bronchoconstriction is assessed over 1-8 h following either intratracheal or intraduodenal instillation or intravenous bolus injection. Bronchospasmolytic activity is expressed as a % inhibition of the initial, maximal resistance (R_0) following the infusion of capsaicin. ED_{50} values represent the dose which causes a 50% reduction of the increase in resistance induced by capsaicin. Duration of

12
24

action is defined as the time in minutes where bronchoconstriction is reduced by 50% or more. Effects on blood pressure (BP) and heart rate (HR) are characterized by ED₂₀ values; i.e., the doses which reduce BP or HR by 20% measured 5m after administration.

5

In the above test model the combinations of therapeutic agents of the present invention generally exhibit bronchodilator activity at dosages in the range of from 0.001 to 0.1 mg/kg i.t. [intra tracheal]. Further, the combination delivered i.t. exhibits an at least additive inhibitory effect on bronchoaspm, with each
10 component alone being able to inhibit more than 50% of the observed control response.

LPS-Induced Lung Neutrophilia - The recruitment to and activation of neutrophils in the lungs is considered an important pathological feature in COPD and in
15 severe asthma. Consequently, inhibition of either or both of these endpoints in animals provides supportive evidence of the utility of the present invention.

Male Wistar-Albino rats (150-250g) or male Dunkin-Hartley guinea-pigs (400-600g) are pretreated with the test articles alone or in combination by inhalation
20 or intratracheal (i.t.) instillation under brief general anaesthesia. After 1-24h after compound administration, animals are challenged with an inhalation aerosol of bacterial lipopolysaccharide (LPS) sufficient to induce over the subsequent 1-24h of a pronounced lung neutrophilia. The neutrophilia is assessed by cell counting in bronchial washings or by determination of neutrophil products in lung
25 washings or tissue. In this test system, the therapeutic agents of the present invention generally exhibit anti-inflammatory activity at doses ranging from 0.0001 to 0.1 mg/kg i.t. Unexpectedly, the combination delivered i.t. exerts at least an additive effect on inflammation, despite the fact that one of the components does not on its own exert a significant anti-inflammatory effect.
30 Further, equivalent anti-inflammatory effects of a high dose of one of the components can be observed with lower doses when used in combination as in this invention, thus minimising systemic unwanted effects.

Allergic guinea-pig Assay - A test for evaluating the therapeutic impact of the combinations of therapeutic agents of the present invention on the symptom of dyspnea and bronchospasm *i.e.*, difficult or labored breathing and increased lung resistance, and on the symptom of inflammation, *ie*: lung neutrophilia and eosinophilia, utilizes Dunkin-Hartley guinea-pigs (400-600 g body weight).

The egg albumin (EA), grade V, crystallized and lyophilized, aluminum hydroxide, and mepyramine maleate used in this test are commercially available. The challenge and subsequent respiratory readings are carried out in a clear plastic box with internal dimensions of 10x6x4 inches. The head and body sections of the box are separable. In use the two are held firmly together by clamps, and an airtight seal between the chambers is maintained by a soft rubber gasket. Through the centre of the head end of the chamber a nebulizer is inserted via an airtight seal and each end of the box also has an outlet. A pneumotachograph is inserted into one end of the box and is coupled to a volumetric pressure transducer which is then connected to a dynograph through appropriate couplers. While aerosolizing the antigen, the outlets are open and the pneumotachograph is isolated from the chamber. The outlets are then closed and the pneumotachograph and the chamber are connected during the recording of the respiratory patterns. For challenge, 2 ml of a 3% solution of antigen in saline is placed in each nebulizer and the aerosol is generated with air from a small diaphragm pump operating at 10 psi and a flow rate of 8 l/m.

Guinea-pigs are sensitized by injecting subcutaneously and i.p. 1 ml of a suspension containing 1 mg EA and 200 mg aluminum hydroxide in saline. They are used between days 12 and 24 post-sensitization. In order to eliminate the histamine component of the response, guinea-pigs are pretreated i.p. 30min prior to aerosol challenge with 2mg/kg of mepyramine. Guinea-pigs are then exposed to an aerosol of 3% EA in saline for exactly 1m, then respiratory profiles are recorded for a further 30m. Subsequently, lung inflammation is determined post mortem over a period of 1-48h. The duration of continuous dyspnea is measured from the respiratory recordings.

23
25

Test combinations of therapeutic agents of the present invention are generally administered i.t. or by aerosol 0.5-4h prior to challenge. The combinations of compounds are either dissolved in saline or biocompatible solvents. The activity of the compounds is determined on the basis of their ability to decrease the magnitude and duration of symptoms of dyspnea and bronchospasm and/or magnitude of lung inflammation in comparison to a group of vehicle-treated controls. Tests of the combinations of therapeutic agents of the present invention are evaluated over a series of doses and an ED₅₀ is derived that is defined as the dose (mg/kg) which will inhibit the duration of symptoms by 50%.

10

Anti-inflammatory Activity - The anti-inflammatory activity of the combinations of therapeutic agents of the present invention is demonstrated by the inhibition of eosinophil or neutrophil activation. In this assay blood samples (50ml) are collected from non-atopic volunteers with eosinophil numbers ranging between 0.06 and 0.47 x 10⁹ L⁻¹. Venous blood is collected into centrifuge tubes containing 5 ml trisodium citrate (3.8%, pH 7.4).

The anticoagulated blood is diluted (1:1, v:v) with phosphate-buffered saline (PBS, containing neither calcium nor magnesium) and is layered onto 15 ml isotonic Percoll (density 1.082 - 1.085 g/ml, pH 7.4), in a 50 ml centrifuge tube. Following centrifugation (30 minutes, 1000 x g, 20°C), mononuclear cells at the plasma/Percoll interface are aspirated carefully and discarded.

The neutrophil/eosinophil/erythrocyte pellet (ca. 5 ml by volume) is gently resuspended in 35 ml of isotonic ammonium chloride solution (NH₄Cl, 155mM; KHC0₃, 10mM; EDTA, 0.1mM; 0-4°C). After 15 min, cells are washed twice (10 min, 400 x g, 4°C) in PBS containing fetal calf serum (2%, FCS).

A magnetic cell separation system is used to separate eosinophils and neutrophils. This system is able to separate cells in suspension according to surface markers, and comprises a permanent magnet, into which is placed a column that includes a magnetizable steel matrix. Prior to use, the column is equilibrated with PBS/FCS for 1 hour and then flushed with ice-cold PBS/FCS on

a retrograde basis via a 20 ml syringe. A 21G hypodermic needle is attached to the base of the column and 1-2 ml of ice cold buffer are allowed to efflux through the needle.

- 5 Following centrifugation of granulocytes, supernatant is aspirated and cells are gently resuspended with 100µl magnetic particles (anti-CD16 monoclonal antibody, conjugated to superparamagnetic particles). The eosinophil/neutrophil/anti-CD16 magnetic particle mixture is incubated on ice for 40 minutes and then diluted to 5 ml with ice-cold PBS/FCS. The cell suspension
- 10 is slowly introduced into the top of the column and the tap is opened to allow the cells to move slowly into the steel matrix. The column is then washed with PBS/FCS (35ml), which is carefully added to the top of the column so as not to disturb the magnetically labeled neutrophils already trapped in the steel matrix. Non-labeled eosinophils are collected in a 50ml centrifuge tube and washed (10
- 15 minutes, 400 x g, 4°C). The resulting pellet is resuspended in 5 ml Hank's balanced salt solution (HBSS) so that cell numbers and purity can be assessed prior to use. The separation column is removed from the magnet and the neutrophil fraction is eluted. The column is then washed with PBS (50ml) and ethanol (absolute), and stored at 4°C.

20

- Total cells are counted with a micro cell counter. One drop of lysogenic solution is added to the sample, which after 30s is recounted to assess contamination with erythrocytes. Cytospin smears are prepared on a Shandon Cytospin 2
- 25 cytosplinner (100 µl samples, 3 minutes, 500 rpm). These preparations are stained and differential cell counts are determined by light microscopy, examining at least 500 cells. Cell viability is assessed by exclusion of trypan blue.

- Eosinophils or neutrophils are diluted in HBSS and pipetted into 96 well
- 30 microtiter plates (MTP) at $1-10 \times 10^3$ cells/well. Each well contains a 200 µl sample comprising: 100 µl cell suspension; 50 µl HBSS; 10 µl lucigenin; 20 µl activation stimulus; and 20 µl test compound.

24
26

The samples are incubated with test compound or vehicle for 10m prior to addition of an activation stimulus fMLP (1-10 μ M) or C5a (1-100nM) dissolved in dimethylsulfoxide and thereafter diluted in buffer, such that the highest solvent concentration used is 1% (at 100 μ M test compound). MTPs are agitated to
5 facilitate mixing of the cells and medium, and the MTP is placed into a luminometer. Total chemiluminescence and the temporal profile of each well is measured simultaneously over 20m and the results expressed as arbitrary units, or as a percentage of fMLP-induced chemiluminescence in the absence of test compound. Results are fitted to the Hill equation and IC_{50} values are calculated
10 automatically.

The combinations of therapeutic agents of the present invention are generally active in the above test method at concentrations in the range of from 0.0001 μ M to 0.5 μ M, with preferred embodiments being active at concentrations in the
15 range of from 0.1 nM to 100 nM.

The anti-inflammatory activity of the combinations of therapeutic agents of the present invention is additionally demonstrated by the inhibition of plasma extravasation into rat airways. In this assay tracheal tissue is taken and the
20 extent of plasma leakage determined. This assay relates equally to other chronic inflammatory diseases of the airways including but not limited to COPD and accordingly is not recapitulated in that section.

Wistar albino rats (150-200g) or Dunkin-Hartley guinea-pigs (450-600g) are
25 anaesthetised with sodium pentobarbitone and venous and arterial cannulae installed. Evans Blue dye to bind plasma proteins is administered i.v. (30mg/kg). After 10mins the test agents are administered i.t. and 10mins later capsaicin administered i.v. (3 μ g/kg). 30mins later, tracheal tissue is removed, extracted overnight into formamide and absorbance read at 620nm. In some experiments
30 the order of dosing was reversed such that the compounds were administered before the Evans Blue and inflammatory stimulus.

In the above test model the combinations of therapeutic agents of the present invention generally exhibit anti-inflammatory activity at dosages in the range of from 0.001 to 0.1 mg/kg *i.t.*

5

From the above it may be seen that the combinations of therapeutic agents of the present invention are useful for the treatment of inflammatory or obstructive airways diseases or other conditions involving airways obstruction. In particular they are useful for the treatment of bronchial asthma.

10

In view of their anti-inflammatory activity and their influence on airways hyper-reactivity, the combinations of therapeutic agents of the present invention are useful for the treatment, in particular prophylactic treatment, of obstructive or inflammatory airways diseases. Thus, by continued and regular administration over prolonged periods of time the combinations of compounds of the present invention are useful in providing advance protection against the recurrence of bronchoconstriction or other symptomatic attack consequential to obstructive or inflammatory airways diseases. The combinations of compounds of the present invention are also useful for the control, amelioration or reversal of the basal status of such diseases.

20

Having regard to their bronchodilator activity the combinations of therapeutic agents of the present invention are useful as bronchodilators, *e.g.*, in the treatment of chronic or acute bronchoconstriction, and for the symptomatic treatment of obstructive or inflammatory airways diseases.

25

Obstructive or inflammatory airways diseases to which the present invention applies include asthma; pneumoconiosis; chronic eosinophilic pneumonia; chronic obstructive airways or pulmonary disease (COAD or COPD); and adult respiratory distress syndrome (ARDS), as well as exacerbation of airways hyper-reactivity consequent to other drug therapy, *e.g.*, aspirin or β -agonist therapy.

30

25
27

The adenosine A_{2a} receptor agonists and adrenergic β_2 receptor agonists of the present invention can be administered alone or in combination but will generally be administered in admixture with a suitable pharmaceutical excipient, diluent or carrier.

5

The adenosine A_{2a} receptor agonists and adrenergic β_2 receptor agonists of the present invention are preferably administered by inhalation and are conveniently delivered in the form of a dry powder (either alone or as a mixture, for example a mixture with lactose) from a dry powder inhaler or an aerosol spray presentation from a pressurised container, pump, spray, atomiser (preferably an atomiser using electrohydrodynamics to produce a fine mist) or nebuliser, with or without the use of a suitable propellant, e.g. dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichlorotetrafluoroethane, a hydrofluoroalkane such as 1,1,1,2-tetrafluoroethane (HFA 134A [trade mark]) or 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropane (HFA 227EA [trade mark]), carbon dioxide, a further perfluorinated hydrocarbon such as Perflubron (trade mark) or other suitable gas. In the case of a pressurised aerosol, the dosage unit may be determined by providing a valve to deliver a metered amount. The pressurised container, pump, spray, atomiser or nebuliser may contain a solution or suspension of the active compound, e.g. using a mixture of ethanol (optionally, aqueous ethanol) or a suitable agent for dispersing, solubilising or extending release and the propellant as the solvent, which may additionally contain a lubricant, e.g. sorbitan trioleate. Capsules, blisters and cartridges (made, for example, from gelatin or HPMC) for use in an inhaler or insufflator may be formulated to contain a powder mix of the compound of the invention, a suitable powder base such as lactose or starch and a performance modifier such as l-leucine, mannitol or magnesium stearate.

Prior to use in a dry powder formulation or suspension formulation for inhalation the compound of the invention will be micronised to a size suitable for delivery by inhalation (typically considered as less than 5 microns). Micronisation could be achieved by a range of methods, for example spiral jet milling, fluid bed jet milling or use of supercritical fluid crystallisation.

A suitable solution formulation for use in an atomiser using electrohydrodynamics to produce a fine mist may contain from 1µg to 10mg of the compound of the invention per actuation and the actuation volume may vary
5 from 1 to 100µl. A typical formulation may comprise a compound of the invention, propylene glycol, sterile water, ethanol and sodium chloride. Alternative solvents may be used in place of propylene glycol, for example glycerol or polyethylene glycol.

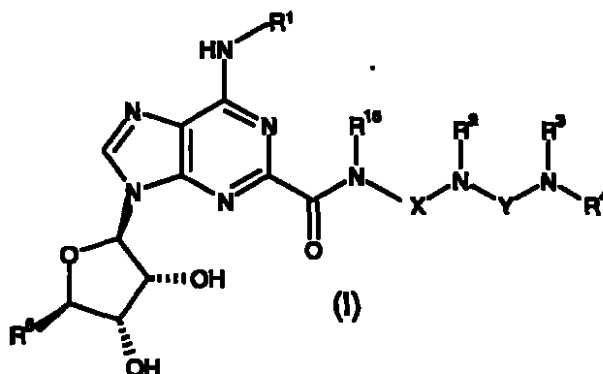
10 Aerosol or dry powder formulations are preferably arranged so that each metered dose or "puff" contains from 1 to 4000 µg of a compound of the invention for delivery to the patient. The overall daily dose with an aerosol will be in the range of from 1µg to 20mg which may be administered in a single dose or, more usually, in divided doses throughout the day.

15 The preferred ratio, by weight (w/w), of adenosine A_{2A} receptor agonist: adrenergic β_2 receptor agonist used will depend on the particular combination being examined. This is due to differences in the potency of individual compounds. The physician in any event will determine the actual dosage of each
20 compound which will be most suitable for any individual patient and it will vary with the age, weight and response of the particular patient.

It is to be appreciated that all references herein to treatment include curative, palliative and prophylactic treatment.

Claims

1. An inhaled combination of (a) an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula



5

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, wherein

- R^1 is H, C_1-C_8 alkyl or fluorenyl, said C_1-C_8 alkyl being optionally substituted by 1 or 2 substituents each independently selected from phenyl and naphthyl, said phenyl and naphthyl being optionally substituted by C_1-C_8 alkyl, C_1-C_8 alkoxy, halo or cyano;

- (A) R^2 is H or C_1-C_8 alkyl, R^{18} is H or C_1-C_8 alkyl, and X is either (i) unbranched C_2-C_3 alkylene optionally substituted by C_1-C_8 alkyl or C_3-C_8 cycloalkyl, or (ii) a group of the formula:



- where W is C_5-C_7 cycloalkylene optionally substituted by C_1-C_8 alkyl, n is 0 or 1 and p is 0 or 1, or

- (B) R^{18} is H or C_1-C_8 alkyl, and R^2 and X, taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidin-3-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C_1-C_8 alkyl, or

(C) R^2 is H or C_1-C_6 alkyl, and R^{15} and X, taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidin-3-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C_1-C_6 alkyl;

5

either, R^3 and R^4 , taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidiny, pyrrolidiny, piperidiny, piperaziny, homopiperidiny or homopiperaziny, each being optionally substituted on a ring nitrogen or carbon atom by C_1-C_6 alkyl or C_3-C_6 cycloalkyl and optionally substituted on a ring carbon atom not adjacent to a ring nitrogen atom by $-NR^6R^7$,

10

or, R^3 is H, C_1-C_6 alkyl, C_3-C_6 cycloalkyl or benzyl and R^4 is

(a) azetidin-3-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C_1-C_6 alkyl, C_3-C_6 cycloalkyl, phenyl, benzyl or het, or

15

(b) $-(C_2-C_6 \text{ alkylene})-R^8$,

(c) $-(C_1-C_6 \text{ alkylene})-R^{13}$, or

(d) C_1-C_6 alkyl or C_3-C_6 cycloalkyl;

20 R^6 is CH_2OH or $CONR^{14}R^{14}$;

R^8 and R^7 are either each independently H or C_1-C_6 alkyl or, taken together with the nitrogen atom to which they are attached, represent azetidiny, pyrrolidiny or piperidiny, said azetidiny, pyrrolidiny and piperidiny being optionally substituted by C_1-C_6 alkyl;

25

R^8 is (i) azetidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, piperidin-1-yl, morpholin-4-yl, piperazin-1-yl, homopiperidin-1-yl, homopiperazin-1-yl or tetrahydroisoquinolin-1-yl, each being optionally substituted on a ring carbon atom by C_1-C_6 alkyl, C_3-C_6 cycloalkyl, phenyl, C_1-C_6 alkoxy- (C_1-C_6) -alkyl, $R^9R^9N-(C_1-C_6)$ -alkyl, fluoro- (C_1-C_6) -alkyl, $-CONR^9R^9$, $-COOR^9$ or C_2-C_6 alkanoyl, and optionally substituted on a ring carbon atom not adjacent to a ring nitrogen atom by fluoro- (C_1-C_6) -alkoxy, halo,

30

27
29

-OR⁹, cyano, -S(O)_mR¹⁰, -NR⁹R⁹, -SO₂NR⁹R⁹, -NR⁹COR¹⁰ or -NR⁹SO₂R¹⁰, and said piperazin-1-yl and homopiperazin-1-yl being optionally substituted on the ring nitrogen atom not attached to the C₂-C₈ alkylene group by C₁-C₈ alkyl, phenyl, C₁-C₈ alkoxy-(C₂-C₈)-alkyl, R⁹R⁹N-(C₂-C₈)-alkyl, fluoro-(C₁-C₈)-alkyl, C₂-C₈ alkanoyl, -COOR¹⁰, C₃-C₈ cycloalkyl, -SO₂R¹⁰, -SO₂NR⁹R⁹ or -CONR⁹R⁹, or
 5 (II) NR¹¹R¹²;

R⁹ is H, C₁-C₈ alkyl, C₃-C₈ cycloalkyl or phenyl;

10 R¹⁰ is C₁-C₈ alkyl, C₃-C₈ cycloalkyl or phenyl;

R¹¹ is H, C₁-C₈ alkyl, C₃-C₈ cycloalkyl or benzyl;

R¹² is H, C₁-C₈ alkyl, C₃-C₈ cycloalkyl, phenyl, benzyl, fluoro-(C₁-C₈)-alkyl,
 15 -CONR⁹R⁹, -COOR¹⁰, C₂-C₅ alkanoyl or -SO₂NR⁹R⁹;

R¹³ is (a) phenyl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl or pyridin-4-yl, each being optionally substituted by C₁-C₈ alkyl, C₁-C₈ alkoxy, -(C₁-C₃ alkylene)-(C₁-C₈ alkoxy), halo, cyano, -(C₁-C₃ alkylene)-CN, -CO₂H, -(C₁-C₃ alkylene)-CO₂H, -CO₂(C₁-C₈ alkyl),
 20 -(C₁-C₃ alkylene)-CO₂(C₁-C₈ alkyl), -(C₁-C₃ alkylene)-NR¹⁴R¹⁴, -CONR¹⁴R¹⁴ or -(C₁-C₃ alkylene)-CONR¹⁴R¹⁴, or (b) azetidin-2-yl, azetidin-3-yl, pyrrolidin-2-yl, pyrrolidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-3-yl, piperidin-4-yl, homopiperidin-2-yl, homopiperidin-3-yl or homopiperidin-4-yl, each being optionally substituted by C₁-C₈ alkyl, C₃-C₈ cycloalkyl, phenyl, benzyl or het;

25

R¹⁴ is H or C₁-C₈ alkyl optionally substituted by cyclopropyl;

m is 0, 1 or 2;

30 Y is CO, CS, SO₂ or C=N(CN); and

"het", used in the definition of R⁴ and R¹³, is a C-linked, 4- to 6-membered ring, heterocycle having either from 1 to 4 ring nitrogen heteroatoms or 1 or 2 nitrogen

ring heteroatoms and 1 oxygen or 1 sulphur ring heteroatom, optionally substituted by C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, C₁-C₆ alkoxy, C₃-C₆ cycloalkoxy, hydroxy, oxo or halo;

- 5 and (b) an adrenergic β 2 receptor agonist.
2. A combination as claimed in claim 1 wherein the adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I) is 6-[(2,2-diphenylethyl)amino]-9-[(2*R*,3*R*,4*S*,5*S*)-5-[(ethylamino)carbonyl]-3,4-dihydroxytetrahydro-2-furanyl)-*N*-(2-[[1-(2-pyridinyl)-4-piperidinyl]amino)carbonyl]amino]ethyl)-9*H*-purine-2-carboxamide or a
10 pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.
3. A combination as claimed in claim 1 or claim 2 wherein the adrenergic β 2 receptor agonist is salmeterol or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.
4. A combination as claimed in claim 1 or claim 2 wherein the adrenergic β 2
15 receptor agonist is formoterol or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.
5. A combination as claimed in any preceding claim for use as a medicament.
6. A combination as claimed in any one of claims 1 to 4 for simultaneous,
20 sequential or separate administration in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.
7. A pharmaceutical composition comprising an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined in claim 1, an adrenergic β 2 receptor agonist and a pharmaceutically acceptable excipient, diluent or carrier, for
25 administration by the inhaled route in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.
8. A pharmaceutical composition, as claimed in claim 7, wherein the adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I) and the adrenergic β 2 receptor agonist are as defined in any one of claims 2 to 4.
- 30 9. The use of an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined in claim 1 or an adrenergic β 2 receptor agonist, in the manufacture of a medicament for simultaneous, sequential or separate administration of both

28
30

29

agents by the inhaled route in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.

10. The use as claimed in claim 9 wherein the adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I) and the adrenergic $\beta 2$ receptor agonist are as defined in any
5 one of claims 2 to 4.

11. A method of treating of an obstructive airways or other inflammatory disease comprising administering simultaneously, sequentially or separately, by the inhaled route, to a mammal in need of such treatment, an effective amount of an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined in claim 1 and an
10 adrenergic $\beta 2$ receptor agonist.

12. A method as claimed in claim 11 wherein the adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I) and the adrenergic $\beta 2$ receptor agonist are as defined in any one of claims 2 to 4.

13. An inhalation device for simultaneous, sequential or separate
15 administration of an adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I), as defined in claim 1 and an adrenergic $\beta 2$ receptor agonist, in the treatment of an obstructive airways or other inflammatory disease.

14. A device as claimed in claim 13 wherein the adenosine A_{2a} receptor agonist of the formula (I) and the adrenergic $\beta 2$ receptor agonist are as defined
20 in any one of claims 2 to 4.

25

Combinación farmacéutica

La presente invención se refiere a una combinación inhalada de un agonista del receptor de adenosina A_{2a} y un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico, a composiciones farmacéuticas, incluyendo los dispositivos para la administración, y a los usos de dicha combinación.

Una combinación de un agonista del receptor de adenosina A_{2a} y un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico es útil en el tratamiento de enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y otras enfermedades inflamatorias, en particular, de enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y otras enfermedades obstructivas de las vías respiratorias exacerbadas por reflejos bronquiales incrementados, inflamación, hiperreactividad bronquial y broncoespasmos.

Ejemplos de enfermedades particulares que se pueden tratar con la presente invención incluyen las enfermedades respiratorias, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, bronquitis, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar (vías respiratorias) obstructiva crónica y silicosis y enfermedades del sistema inmune tales como rinitis alérgica y sinusitis crónica.

La adenosina tiene una amplia gama de actividades fisiológicas, incluyendo respuestas inmunes e inflamatorias, que están mediadas por receptores e implican la interacción con al menos cuatro tipos de receptores de la membrana plasmática. Estos receptores se denominan corrientemente A_1 , A_{2a} , A_{2b} y A_3 . Se ha encontrado que la adenosina y sus análogos poseen un amplio espectro de actividad antiinflamatoria que implica a una variedad significativa de células inmunes e inflamatorias, incluyendo los neutrófilos y eosinófilos. La activación de los receptores A_{2a} en neutrófilos tiene como resultado la supresión de la producción de oxidantes reactivos y otros

20
32

mediadores de la inflamación tales como elastasa por estas células, así como una menor expresión de β_2 -integrinas.

Los receptores A_{2a} se conocen por su existencia en linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos/macrófagos, células epiteliales y en el tejido endotelial vascular con el cual interaccionan. La adenosina que se une a los receptores A_{2a} puede reducir la inflamación influyendo en las actividades de una serie de estos tipos de células. Por ejemplo, los agonistas del receptor A_2 inhiben notablemente las especies oxidantes generadas por estimulantes fisiológicos tales como quimioattractores de neutrófilos, citoquinas y productos lipídicos.

La ocupación de los receptores de adenosina A_{2a} estimula la adenil ciclasa de los neutrófilos, lo que tiene como resultado un aumento en el AMP cíclico intracelular. A su vez, un aumento en el AMP cíclico de neutrófilos produce la depresión de la actividad oxidante estimulada por neutrófilos. A través de una acción relacionada en una diversidad de otros tipos de células inflamatorias, las propiedades antiinflamatorias de los agonistas de A_{2a} van más allá de las actividades inhibitoras en los neutrófilos. La adenosina también disminuye la liberación de $TNF\alpha$ de monocitos/macrófagos estimulada por endotoxinas y se ha observado que la adenosina endógena, así como sus análogos, reducen la producción de $TNF\alpha$ en monocitos humanos por unión a receptores de adenosina A_{2a} .

La liberación estimulada por endotoxinas de interleuquina-6 (IL-6) e interleuquina-8 (IL-8) se reduce por los análogos de adenosina con un orden de potencia que sugiere la actividad del receptor de adenosina A_{2a} . La interleuquina-10 (IL-10) tiene una actividad antiinflamatoria como resultado de su capacidad para reducir la liberación de $TNF\alpha$ estimulada por endotoxinas a partir de monocitos, para inhibir la actividad oxidante y reducir la expresión de moléculas de adhesión leucocitarias. La adenosina potencia la producción de

31
33

monocitos humanos estimulada de IL-10; por consiguiente, la unión de adenosina a los receptores A_{2a} promueve la resolución de cualquier respuesta inflamatoria en curso que pueda verse involucrada.

5 Los eosinófilos activados migran a los tejidos y causan lesiones celulares e inflamación en enfermedades tales como asma alérgica y no alérgica, rinitis alérgica y dermatitis atópica. La adenosina y los análogos agonistas del receptor de adenosina A_{2a} , uniéndose a los receptores
10 A_{2a} en eosinófilos, inhiben la liberación estimulada de especies de oxígeno reactivas, una respuesta que es paralela al efecto inhibitor de los receptores A_{2a} en neutrófilos.

Además, los agonistas de A_{2a} inhalados inhiben el
15 reclutamiento de eosinófilos en los pulmones de cobayos sensibilizados mediante la acción en los pulmones (véase el documento WO-A-99/67263). Esto es importante puesto que los agonistas de A_{2a} relajan los vasos sanguíneos y reducen la presión arterial en animales y así la acción
20 antiinflamatoria de los agonistas de A_{2a} se produce idealmente por un agente inhalado que tiene un alto índice terapéutico de actividad en el pulmón comparado con el compartimento periférico.

Los receptores β -adrenérgicos se presentan en el
25 sistema nervioso simpático. Existen al menos dos tipos. Los receptores β_1 -adrenérgicos se localizan en el corazón y desempeñan una función importante en la regulación de la frecuencia cardíaca mediante la acción de los agonistas epinefrina y norepinefrina. Los receptores β_2 -adrenérgicos
30 están presentes en una serie de tipos de células en el pulmón (por ejemplo, células del músculo liso de las vías respiratorias, células epiteliales y una diversidad de células inflamatorias) y los agonistas del receptor β_2 -adrenérgico son eficaces broncodilatadores, provocando la
35 relajación del músculo liso de las vías respiratorias. Las aminas simpaticomiméticas tienen una larga historia de uso en el tratamiento de enfermedades crónicas de las vías

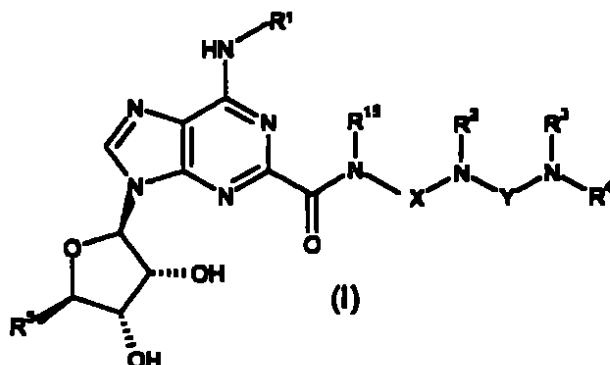
32
34

respiratorias caracterizadas por un estrechamiento parcialmente reversible de las vías respiratorias tales como COPD y asma y se usaron inicialmente como broncodilatadores en forma de epinefrina intravenosa. 5 Posteriormente, se usaron agentes β -adrenérgicos inhalados tales como isoprenalina que eran relativamente no selectivos para los receptores β_2 sobre los β_1 y así provocaban taquicardia en dosis broncodilatadoras eficaces. Más recientemente, se han usado agentes β -adrenérgicos 10 inhalados como salbutamol que son más selectivos para el receptor β_2 pero de acción corta. Los agentes β -adrenérgicos inhalados formoterol y salmeterol son ambos selectivos y de acción prolongada.

Se ha descubierto ahora de forma sorprendente que 15 combinaciones de agonistas del receptor de adenosina A_{2a} y agonistas del receptor β_2 -adrenérgico ofrecen beneficios significativos en el tratamiento de enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y otras enfermedades inflamatorias con respecto al tratamiento con el agente 20 solo o con respecto a otras combinaciones conocidas. La ventaja de la combinación es proporcionar un control óptimo del calibre de las vías respiratorias mediante el mecanismo más apropiado a la patología de la enfermedad, a saber, agonismo del receptor β_2 -adrenérgico, junto con la 25 supresión efectiva de la inflamación inapropiada. De este modo, se controlan los síntomas de la enfermedad corrigiendo los reflejos neurales de las vías respiratorias inapropiados que conducen a tos, producción de mocos y disnea. Liberando tanto el agonista del receptor β_2 - 30 adrenérgico como el agonista de A_{2a} por vía inhalada, se consiguen los beneficios de cada clase sin los efectos periféricos indeseados. Además, las combinaciones particulares de la presente invención tienen como resultado una sinergia inesperada, produciendo una mayor eficacia que 35 las dosis toleradas máximas de cualquiera de las clases de agentes usados solos.

23
35

La invención proporciona por tanto una combinación inhalada de (a) un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula



5 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que

R¹ es H, alquilo C₁-C₆, o fluorenilo, estando dicho alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de fenilo y naftilo, estando dichos fenilo y naftilo
10 opcionalmente sustituidos con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo o ciano;

(A) R² es H o alquilo C₁-C₆, R¹⁵ es H o alquilo C₁-C₆ y X es (i) alquileno C₂-C₃ no ramificado, opcionalmente
15 sustituido con alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₈, o (ii) un grupo de fórmula:



en la que W es cicloalquileno C₅-C₇ opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, n es 0 ó 1 y p es 0 ó 1, o

(B) R¹⁵ es H o alquilo C₁-C₆, y R² y X, tomados junto al átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidín-3-ilo, pirrolidín-3-ilo, piperidín-3-ilo, piperidín-4-ilo, homopiperidín-3-ilo u homopiperidín-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con
25 alquilo C₁-C₆, o

(C) R² es H o alquilo C₁-C₆, y R¹⁵ y X, tomados junto al átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidín-3-ilo, pirrolidín-3-ilo, piperidín-3-ilo, piperidín-4-ilo, homopiperidín-3-ilo u homopiperidín-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con
30 4-ilo,

34
36

alquilo C₁-C₆;

cualquiera de R³ y R⁴, tomados junto al átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidínico, pirrolidinico, piperidinico, piperazínico, 5 homopiperidinico u homopiperazínico, estando cada uno opcionalmente sustituido en un átomo de nitrógeno o de carbono de anillo con alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₈ y opcionalmente sustituido en un átomo de carbono de anillo no adyacente a un átomo de nitrógeno de anillo con -NR⁶R⁷, 10 o, R³ es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o bencilo y R⁴ es

(a) azetidín-3-ilo, pirrolidín-3-ilo, piperidín-3-ilo, piperidín-4-ilo, homopiperidín-3-ilo u homopiperidín-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con alquilo C₁- 15 C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, bencilo o het, o

(b) -(alquilenos C₂-C₆)-R⁸,

(c) -(alquilenos C₁-C₆)-R¹³, o

(d) alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₈;

R⁵ es CH₂OH o CONR¹⁴R¹⁴;

20 cada uno de R⁶ y R⁷ representa independientemente H o alquilo C₁-C₆ o, tomados junto con el átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidínico, pirrolidinico o piperidinico, estando dichos azetidínico, pirrolidinico o piperidinico opcionalmente sustituidos con 25 alquilo C₁-C₆;

R⁸ es (i) azetidín-1-ilo, pirrolidín-1-ilo, piperidín-1-ilo, morfolín-4-ilo, piperazín-1-ilo, homopiperidín-1-ilo, homopiperazín-1-ilo o tetrahidroisoquinolín-1-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido sobre un átomo de 30 carbono de anillo con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, (alcoxi C₁-C₆) (alquilo C₁-C₆), R⁹R⁹N-(alquilo C₁-C₆), fluoro(alquilo C₁-C₆), -CONR⁹R⁹, -COOR⁹ o alcanóilo C₂-C₅, y opcionalmente sustituido sobre un átomo de carbono de anillo no adyacente a un átomo de nitrógeno de anillo con 35 fluoro(alcoxi C₁-C₆), halo, -OR⁹, ciano, -S(O)_mR¹⁰, -NR⁹R⁹, -SO₂NR⁹R⁹, -NR⁹COR¹⁰ o -NR⁹SO₂R¹⁰, y estando dichos piperazín-1-ilo y homopiperazín-1-ilo opcionalmente sustituidos en el

35
37

- átomo de nitrógeno de anillo no unido al grupo alquileo C₂-C₆ con alquilo C₁-C₆, fenilo, (alcoxi C₁-C₆)(alquilo C₂-C₆), R⁹R⁹N-(alquilo C₂-C₆), fluoro(alquilo C₁-C₆), alcanóilo C₂-C₅, -COOR¹⁰, cicloalquilo C₃-C₈, -SO₂R¹⁰, -SO₂NR⁹R⁹ o
- 5 -CONR⁹R⁹, o
- (ii) NR¹¹R¹²;
- R⁹ es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o fenilo;
- R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o fenilo;
- R¹¹ es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o bencilo;
- 10 R¹² es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, bencilo, fluoro(alquilo C₁-C₆), -CONR⁹R⁹, -COOR¹⁰, alcanóilo C₂-C₅ o -SO₂NR⁹R⁹;
- R¹³ es (a) fenilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo o piridin-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido
- 15 con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, -(alquileo C₁-C₃)-(alcoxi C₁-C₆), halo, ciano, -(alquileo C₁-C₃)-CN, -CO₂H, -(alquileo C₁-C₃)-CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -(alquileo C₁-C₃)-CO₂-(alquilo C₁-C₆), -(alquileo C₁-C₃)-NR¹⁴R¹⁴, -CONR¹⁴R¹⁴ o -(alquileo C₁-C₃)-CONR¹⁴R¹⁴, o (b) azetidin-2-ilo,
- 20 azetidin-3-ilo, pirrolidin-2-ilo, pirrolidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-4-ilo, homopiperidin-2-ilo, homopiperidin-3-ilo u homopiperidin-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, bencilo o het;
- 25 R¹⁴ es H o alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con ciclopropilo;
- m es 0, 1 ó 2;
- Y es CO, CS, SO₂ o C=N(CN); y
- "het", usado en la definición de R⁴ y R¹³, es un anillo
- 30 de 4 a 6 miembros unido por C, heterociclo que tiene de 1 a 4 heteroátomos de nitrógeno de anillo o 1 ó 2 heteroátomos de anillo nitrógeno y 1 heteroátomo de anillo oxígeno o 1 azufre, opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, alcoxi C₁-C₆, cicloalcoxi C₃-C₈, hidroxilo,
- 35 oxo o halo;
- y (b) un agonista del receptor β₂-adrenérgico.
- Además, la invención proporciona una combinación

inhalada que comprende (a) un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I), como la definida antes, y (b) un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico, para usar como medicamento.

5 Además, la invención proporciona una combinación que comprende (a) un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I), como la definida antes, y (b) un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico, para la administración simultánea, secuencial o por separado por vía inhalada en el
10 tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

Además, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I), como la definida antes, un
15 agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para la administración por vía inhalada en el tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

20 Además, la invención proporciona el uso de un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I), como la definida antes, o un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico, en la fabricación de un medicamento para la administración simultánea, secuencial o por separado de ambos agentes por
25 vía inhalada en el tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

Además, la invención proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias
30 u otra enfermedad inflamatoria que comprende administrar, de forma simultánea, secuencial o por separado, por vía inhalada, a un mamífero que necesite dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I), como la definida antes, y un agonista
35 del receptor $\beta 2$ -adrenérgico.

Además, la invención proporciona un dispositivo de inhalación para la administración simultánea, secuencial o

por separado, de un agonista del receptor de adenosina A₂, de fórmula (I), como la definida antes, y un agonista del receptor β₂-adrenérgico, en el tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra
5 enfermedad inflamatoria.

La preparación de un compuesto de fórmula (I) se describe en la solicitud de patente internacional número PCT/IB01/00973, publicada como documento WO-A-01/94368.

Los agonistas del receptor de adenosina A₂, preferidos
10 para usar en la invención incluyen 6-[(2,2-difeniletil)amino]-9-[(2R,3R,4S,5S)-5-[(etilamino)-carbonil]-3,4-dihidroxitetrahydro-2-furanil]-N-[2-[[[1-(2-piridinil)-4-piperidinil]amino]carbonil]amino]etil]-9H-
15 purina-2-carboxamida (Ejemplos 8 y 35 del documento WO-A-01/94368) y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

Con preferencia, un agonista del receptor β₂-adrenérgico usado en una combinación conforme a la invención es un agonista del receptor β₂-adrenérgico
20 selectivo, es decir, tiene una mayor afinidad por el receptor β₂-adrenérgico que por los otros receptores β-adrenérgicos conocidos. Con preferencia, la afinidad de dichos agonistas del receptor β₂-adrenérgico selectivos es al menos 100 veces mayor por el receptor β₂-adrenérgico al
25 comparar con su afinidad por los otros receptores β-adrenérgicos.

Los agonistas preferidos del receptor β₂-adrenérgico para usar en la invención incluyen salmeterol, formoterol y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

30 Combinaciones específicas preferidas de un agonista del receptor de adenosina A₂, y un agonista del receptor β₂-adrenérgico para usar en la invención incluyen:

6-[(2,2-difeniletil)amino]-9-[(2R,3R,4S,5S)-5-[(etilamino)carbonil]-3,4-dihidroxitetrahydro-2-furanil]-N-
35 {2-[[[1-(2-piridinil)-4-piperidinil]amino]carbonil]amino]-etil}-9H-purina-2-carboxamida, o una de sus sales o

28
40

solvatos farmacéuticamente aceptables y salmeterol, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables; y

6-[(2,2-difeniletil)amino]-9-[(2R,3R,4S,5S)-5-
[(etilamino)carbonil]-3,4-dihidroxitetrahidro-2-furanil)-N-
5 {2-[[[1-(2-piridinil)-4-piperidinil]amino]carbonil]amino]-
etil)-9H-purina-2-carboxamida, o una de sus sales o
solvatos farmacéuticamente aceptables y formoterol, o una
de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

Opcionalmente, se puede usar un agonista del receptor
10 de adenosina A_{2a} o un agonista del receptor β₂-adrenérgico
usado conforme a la invención en forma de una sal o solvato
farmacéuticamente aceptable. Dicha sal puede ser una sal de
adición de ácidos o de bases.

Las sales de adición de ácidos adecuadas se forman de
15 ácidos que forman sales no tóxicas y ejemplos de los cuales
son las sales hidrocloruro, hidrobromuro, hidroyoduro,
sulfato, bisulfato, nitrato, fosfato, fosfato ácido,
acetato, maleato, fumarato, lactato, tartrato, citrato,
gluconato, succinato, sacarato, benzoato, metanosulfonato,
20 etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y
pamoato.

Las sales de bases adecuadas se forman de bases que
forman sales no tóxicas y son ejemplos las sales de sodio,
potasio, aluminio, calcio, magnesio, cinc y dietanolamina.

25 Puede encontrarse una revisión de sales adecuadas en
Berge et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977.

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de los
agonistas del receptor de adenosina A_{2a} y los agonistas del
receptor β₂-adrenérgico usados conforme a la invención, o
30 sus sales, incluyen sus hidratos.

Los agonistas del receptor de adenosina A_{2a} y los
agonistas del receptor β₂-adrenérgico de la invención
pueden existir en una o más formas polimórficas.

Los agonistas del receptor de adenosina A_{2a} y los
35 agonistas del receptor β₂-adrenérgico de la invención
pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos y,
por tanto, existir en dos o más formas estereoisoméricas

34
41

(por ejemplo, una realización preferida es R,R'-formoterol). Cuando tales agonistas contengan un grupo alquenilo o alquenileno, puede presentarse también isomería cis/trans (o Z/E). La presente invención incluye estos
5 estereoisómeros individuales de los compuestos de la invención y, cuando sea apropiado, las formas tautómeras individuales de los mismos, junto con sus mezclas.

La separación de diastereoisómeros o isómeros cis/trans puede conseguirse por técnicas convencionales,
10 por ejemplo, por cristalización fraccionada, cromatografía o HPLC de una mezcla de estereoisómeros de un compuesto de la invención o de una de sus sales o derivados adecuados. También se puede preparar un enantiómero individual de un compuesto de la invención a partir del intermedio
15 ópticamente puro correspondiente o por resolución, tal como por HPLC del racemato correspondiente usando un soporte quiral adecuado o por cristalización fraccionada de las sales diastereoisoméricas formadas por reacción del racemato correspondiente con un ácido o base ópticamente
20 activo adecuado, según sea lo más apropiado.

La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de un compuesto de la invención o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Se define una variación isotópica de un
25 compuesto de la invención o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables como aquella en la que al menos un átomo está reemplazado por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica encontrada normalmente en la naturaleza.
30 Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención y en sus sales farmacéuticamente aceptables incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente.
35 Ciertas variaciones isotópicas de los compuestos de la invención y de sus sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, aquellas en las que se incorpora un isótopo

140
42

radiactivo tal como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución en los tejidos de fármacos y/o sustratos. Los isótopos tritio, es decir, ^3H , y carbono 14, es decir, ^{14}C , son particularmente preferidos por su facilidad de
5 preparación y de detección. Además, la sustitución con isótopos como el deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas originadas por la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida in vivo o menores requerimientos de dosificación y, por tanto,
10 pueden ser preferidos en algunas circunstancias.

Los tipos de enfermedades que se pueden tratar usando las combinaciones de la presente invención incluyen, aunque no quedan limitadas a las mismas, asma, broncoconstricción crónica o aguda, bronquitis crónica, obstrucción de las vías
15 respiratorias menores, enfisema, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), COPD con bronquitis crónica, enfisema pulmonar o disnea asociada con el mismo y COPD que se caracterice por obstrucción irreversible y progresiva de las vías respiratorias.

20

Asma

Una de las enfermedades respiratorias más importantes que puede tratarse con las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención es asma, un trastorno
25 crónico, cada vez más común presente en todo el mundo y caracterizado por obstrucción reversible intermitente de las vías respiratorias, hipersensibilidad de las vías respiratorias e inflamación. La causa del asma no se ha determinado todavía, pero la expresión patológica más común
30 del asma es la inflamación de las vías respiratorias, la cual puede ser significativa, incluso en las vías respiratorias de pacientes con asma leve. Esta inflamación conduce a sucesos reflejos en las vías respiratorias que producen la extravasación de proteínas plasmáticas, disnea
35 y broncoconstricción. Tomando como base estudios de biopsias y lavados bronquiales se ha demostrado inequívocamente que el asma implica la infiltración por

43

células cebadas, eosinófilos y linfocitos T en las vías respiratorias del paciente. El lavado broncoalveolar (BAL) en asmáticos atópicos muestra la activación de interleuquina (IL)-3, IL-4, IL-5 y el factor estimulador de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF) que sugiere la presencia de una población de linfocitos T como los linfocitos T auxiliares 2 (Th-2).

Las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención son útiles en el tratamiento de asma atópica y no atópica. El término "atopía" se refiere a la predisposición genética hacia el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad tipo I (inmediatas) contra los antígenos del entorno comunes. La manifestación clínica más corriente es rinitis alérgica, aunque se producen con menos frecuencia asma bronquial, dermatitis atópica y alergia a alimentos. Por consiguiente, la expresión "asma atópica" tal y como se usa en la presente memoria, se pretende que sea sinónimo de "asma alérgica", es decir, asma bronquial que es una manifestación alérgica en una persona sensibilizada. La expresión "asma no atópica" tal y como se usa en la presente memoria se pretende que se refiera al resto de asmas, especialmente asma esencial o "verdadera", que está provocada por una diversidad de factores, incluyendo ejercicio intenso, partículas irritantes, estrés psicológico y factores similares.

Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (COPD)

Las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención son además útiles en el tratamiento de COPD o COAD, incluyendo bronquitis crónica, enfisema pulmonar o disnea asociada con las mismas. La COPD se caracteriza por una obstrucción apenas reversible y progresiva de las vías respiratorias. La bronquitis crónica se asocia con hiperplasia e hipertrofia de las glándulas que segregan mucus de la submucosa en las vías respiratorias cartilaginosas grandes. La hiperplasia de células de Goblet, infiltración de células inflamatorias en

la mucosa y submucosa, edema, fibrosis, tapones de mucus y músculo liso agrandado se encuentran todas en los bronquiolos terminales y respiratorios. Las pequeñas vías respiratorias se conocen por ser el principal sitio de obstrucción de las vías respiratorias. El enfisema se caracteriza por destrucción de la pared alveolar y pérdida de elasticidad del pulmón. También se han identificado una serie de factores de riesgo asociados con la incidencia de COPD. Está bien establecida la asociación entre tabaco y COPD. Otros factores de riesgo incluyen exposición a polvo de carbón y diversos factores genéticos. Véase Sandford et al., "Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease", *Eur. Respir. J.*, 10 1380-1391, 1997. La incidencia de COPD va en aumento y representa una carga económica significativa en las poblaciones de países industrializados. La COPD también se presenta en sí misma clínicamente con un amplio margen de variación desde la bronquitis crónica simple sin incapacidad hasta pacientes en un estado gravemente incapacitado con insuficiencia respiratoria crónica.

La COPD se caracteriza por inflamación de las vías respiratorias, como es el caso del asma, pero las células inflamatorias que se han encontrado en el fluido del lavado broncoalveolar y en esputos de pacientes son neutrófilos y macrófagos en lugar de eosinófilos. También se han encontrado elevados niveles de mediadores inflamatorios en pacientes con COPD, incluyendo IL-8, LTB₄ y TNF- α , y se ha encontrado que el epitelio y el subepitelio superficial de los bronquios de tales pacientes tienen infiltraciones de linfocitos T y macrófagos. El alivio sintomático para pacientes con COPD puede proporcionarse usando broncodilatadores de agonistas β y broncodilatadores anticolinérgicos, pero el progreso de la enfermedad permanece inalterado. Se ha tratado COPD usando teofilina, pero sin mucho éxito, debido en parte a su propensión a producir efectos indeseados. También han fallado los esteroides en mantener grandes esperanzas como agentes de

43
45

tratamiento satisfactorios en COPD ya que son relativamente ineficaces como agentes antiinflamatorios.

Por consiguiente, el uso de combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención para tratar COPD y sus enfermedades de las vías respiratorias obstruidas relacionadas representa un avance significativo en la técnica. La presente invención no está limitada a ningún modo de acción particular o a ninguna hipótesis en cuanto a la forma en que se han obtenido los objetivos terapéuticos deseados utilizando las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención.

Bronquitis y bronquiectasias

Conforme a las actividades inhibidoras particulares y diversas descritas antes que poseen las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención, éstas son útiles en el tratamiento de bronquitis de cualquier tipo, etiología o patogénesis, incluyendo, por ejemplo, bronquitis aguda que tiene un curso corto pero severo y está casada por exposición a frío, respirar sustancias irritantes o a una infección aguda; bronquitis catarral que es una forma de bronquitis aguda con una descarga mucopurulenta profusa; bronquitis crónica que es una forma continuada a largo plazo de bronquitis con una tenencia más o menos acentuada a recurrencia después de estadios de quiescencia, debida a ataques repetidos de bronquitis aguda o enfermedades generales crónicas, caracterizada por ataques de tos, por expectoración ya sea ligera o profusa y por cambios secundarios en el tejido pulmonar; bronquitis seca que está caracterizada por secreción ligera de esputos con tos; bronquitis asmática infecciosa que es un síndrome marcado por el desarrollo de síntomas de broncoespasmo seguido de infecciones del tracto respiratorio en personas con asma; bronquitis productiva que es bronquitis asociada con una tos productiva.

El uso de combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención para tratar asma atópica o asma no

46

atópica, COPD u otra enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias se puede establecer y demostrar por el uso de una serie de modelos diferentes conocidos en la técnica de la inhibición de sucesos reflejos en las vías respiratorias, incluyendo los modelos de extravasación de plasma y broncoespasmolítico descritos a continuación.

Actividad broncodilatadora - El AMPc no solo está implicado en la relajación del músculo liso, sino también ejerce una influencia inhibidora general sobre la proliferación del músculo liso de las vías respiratorias, los cuales se pueden producir ambos por la activación de los receptores A2a por un componente de la invención. La hipertrofia e hiperplasia del músculo liso de las vías respiratorias se pueden modular por el AMPc y estos estados son características morfológicas comunes del asma crónica.

El uso de las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención para tratar asma atópica o asma no atópica, COPD u otra enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias puede establecerse o demostrarse mediante el uso de una serie de modelos diferentes conocidos en la técnica que incluyen los modelos descritos a continuación.

Actividad broncoespasmolítica in vitro - En el siguiente procedimiento de ensayo se demuestra la capacidad de las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención para causar la relajación del músculo liso de la tráquea de cobayos. Se sacrifican cobayos (350 a 500 g) con pentotal sódico (100 mg/kg i.p.). Se disecciona la tráquea y se separa una sección de 2 a 3 cm de longitud. Se transecta la tráquea en el plano transversal en placas de cartilago alternadas para proporcionar anillos de tejido de 3 a 5 mm de profundidad. Se descartan los anillos distal y proximal. Los anillos individuales se montan verticalmente en soportes de acero inoxidable, uno de los cuales está fijado en la base de un baño de órganos, mientras que el otro está fijado a un transductor isométrico. Los anillos se introducen en solución de Krebs (composición μM : NaHCO_3

48
47

25; NaCl 113; KCl 4,7; MgSO₄·7H₂O 1,2; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 2,5; glucosa 11,7) a 37°C y se gasifican con O₂/CO₂ (95:5 v/v). Los anillos preparados de esta forma se contraen por estimulación de campo. Para determinar la actividad
5 espasmolítica, se disuelven combinaciones de ensayo de agentes terapéuticos de la presente invención en solución salina fisiológica y se añaden en cantidades crecientes al baño de órganos en intervalos de 5 minutos para proporcionar una curva concentración - efecto acumulativa.

10 En el modelo de ensayo anterior, las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención inhiben por lo general la contracción estimulada por campo de las preparaciones de anillos de tráquea de cobayos en concentraciones en el intervalo de 0,001 a 1,0 µM.

15 Relajación de bronquios humanos - Se obtienen muestras de pulmones humanos diseccionadas durante cirugía para el cáncer dentro de los tres días siguientes a su extirpación. Se separan los bronquios pequeños (diámetro interno aproximadamente 2 a 5 mm), se cortan en segmentos y se
20 colocan en ampollas de almacenamiento de nitrógeno líquido de 2 ml llenas con suero bovino fetal (FCS) que contiene dimetil sulfóxido 1,8M (DMSO) y sacarosa 0,1M como agentes crioprotectores. Las ampollas se colocan en una caja de poliestireno (11 x 11 x 12 cm) y se congelan lentamente a
25 una velocidad media de enfriamiento de aproximadamente 0,6°/minuto en un congelador mantenido a -70°C. Después de 3 a 15 horas, se transfieren las ampollas a nitrógeno líquido (-196°C) en el que se almacenan hasta su uso. Antes de usar, se exponen los tejidos durante 30 a 60 minutos a
30 -70°C antes de descongelarse en 2,5 minutos colocando las ampollas en un baño de agua a 37°C. A continuación, se aclaran los segmentos bronquiales colocándolos en una placa que contenía solución de Krebs-Henseleit (µM: NaCl 118; KCl 4,7; MgSO₄ 1,2; CaCl₂ 1,2; KH₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 25, glucosa
35 11, EDTA 0,03) a 37°C, se cortan en anillos y se suspenden en baños de órganos de 10 ml para el registro de la tensión isométrica bajo una carga predeterminada de aproximadamente

48

1 g. Se inducen aumentos posteriores de tensión mediante la aplicación de estimulación de campo, que se conoce por inducir la activación de nervios en la muestra de las vías respiratorias y generar tensión a través de la liberación de acetilcolina y otros mediadores neuralmente derivados. Las curvas de concentración-respuesta se producen mediante adiciones acumuladas, añadiéndose cada concentración cuando se ha producido el máximo efecto por la concentración previa. Se añade papaverina (300 μ M) al finalizar la curva de concentración-respuesta para inducir la relajación completa de los anillos bronquiales. Este efecto se toma como relajación del 100%.

En el modelo de ensayo anterior, las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención producen la relajación relacionada con la concentración de preparaciones de anillos de bronquios humanos en concentraciones en el intervalo de 0,001 a 1,0 μ M, siendo las realizaciones preferidas activas en concentraciones en el intervalo de 5,0 nM a 500 nM.

Supresión de la broncoconstricción inducida por capsaicina - Se anestesian con fenobarbital sódico (100 mg/kg intraperitonealmente) cobayos macho Dunkin-Hartley (400 a 800 g) con acceso libre a comida y agua antes del experimento. Los animales, mantenidos a 37°C con un lecho calefactado, controlados por un termómetro rectal, se ventilan mediante una cánula en la tráquea (aproximadamente 8 ml/kg, 1Hz) con una mezcla de aire y oxígeno (45:55 v/v). La ventilación se controla en la tráquea por un neumotacógrafo conectado a un transductor de presión diferencial en línea con la bomba respiratoria. Los cambios de presión en el tórax se controlan directamente a través de una cánula intratorácica, usando un transductor de presión diferencial de modo que se puede medir y registrar la diferencia de presión entre la tráquea y el tórax. A partir de estas medidas de flujo de aire y presión transpulmonar, se calculan la resistencia de las vías respiratorias (R_1 cm H₂O/l/s) y la compliancia (Cd_{dyn}) con

un analizador respiratorio electrónico digital para cada ciclo respiratorio. Se registran la tensión arterial y la frecuencia cardíaca de la arteria carótida usando un transductor de presión.

5 Cuando los valores para la resistencia y la compliancia basales son estables, se induce un episodio agudo de broncoconstricción por una inyección intravenosa de gran tamaño de capsaicina. La capsaicina se disuelve en etanol al 100% y se diluye con solución salina tamponada
10 con fosfato. Las combinaciones de ensayo de los agentes terapéuticos de la presente invención se administran cuando la respuesta a la capsaicina es estable, lo que se calcula después de 2 a 3 de tales administraciones a intervalos de 10 minutos. La reversión de la broncoconstricción se valora
15 durante 1 a 8 horas después de la instilación intratraqueal o intraduodenal o la inyección intravenosa de gran tamaño. La actividad broncoespasmolítica se expresa como el % de inhibición de la resistencia máxima inicial (R_0) después de la infusión de capsaicina. Los valores de ED_{50} representan
20 la dosis que causa una reducción del 50% del aumento en la resistencia inducida por capsaicina. La duración de la acción se define como el tiempo en minutos en el que se reduce la broncoconstricción en un 50% o más. Los efectos sobre la tensión arterial (BP) y frecuencia cardíaca (HR)
25 se caracterizan por los valores de ED_{20} , es decir, las dosis que reducen la BP o HR en un 20% medidas 5 minutos después de la administración.

En el modelo de ensayo anterior, las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención presentan
30 actividad broncodilatadora en dosis en el intervalo de 0,001 a 0,1 mg/kg i.t. [intratraquealmente]. Además, la combinación liberada i.t. presenta al menos un efecto inhibidor aditivo sobre los broncoespasmos, siendo capaz cada componente solo de inhibir más del 50% de la respuesta
35 de control observada.

Neutrofilia pulmonar inducida por LPS - El reclutamiento y activación de neutrófilos en los pulmones

se considera una cualidad patológica importante en la COPD y en el asma severa. Por consiguiente, la inhibición de cualquiera de estas dos consecuencias o ambas en animales proporciona una evidencia de apoyo de la utilidad de la presente invención.

Se tratan con antelación con los artículos de ensayo solos o combinados por inhalación o instilación intratraqueal (i.t.) bajo anestesia general ratas macho Wistar-Albino (150 a 250 g) o cobayos macho Dunkin-Hartley (400 a 600 g). Tras 1 a 24 horas después de la administración del compuesto, los animales se estimulan de forma provocada con aerosol por inhalación de liopolisacárido bacteriano (LPS) suficiente para inducir durante las siguientes 1 a 24 horas una pronunciada neutrofilia pulmonar. La neutrofilia se valora por recuento celular en lavados bronquiales o por determinación de productos neutrófilos en lavados pulmonares o en tejido. En este sistema de ensayo, los agentes terapéuticos de la presente invención presentan una actividad antiinflamatoria en dosis que varían de 0,0001 a 0,1 mg/kg i.t. De forma inesperada, la combinación administrada i.t. ejerce al menos un efecto aditivo sobre la inflamación, a pesar del hecho de que uno de los componentes no ejerce por sí mismo un efecto antiinflamatorio significativo. Además, se pueden observar efectos antiinflamatorios equivalentes de una dosis elevada de uno de los componentes con dosis menores cuando se usa en combinación como en esta invención, minimizando así los efectos sistémicos indeseados.

Ensayo en cobayos alérgicos - Un ensayo para evaluar el impacto terapéutico de las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención sobre el síntoma de disnea y broncoespasmos, es decir, respiración costosa o dificultad respiratoria y mayor resistencia pulmonar y sobre el síntoma de inflamación, es decir: neutrofilia y eosinofilia pulmonar, utiliza cobayos Dunkin-Hartley (400 a 600 g de peso corporal).

La albúmina de huevo (EA), grado V, cristalizada y

lío filizada, hidróxido de aluminio y maleato de mepiramina
usados en este ensayo están disponibles de forma comercial.
La estimulación provocada y posteriores lecturas
respiratorias se llevan a cabo en una caja de plástico
5 transparente con dimensiones internas de 25,4 x 15,24 x
10,16 cm. Las secciones de cabeza y cuerpo de la caja
pueden separarse. En uso, las dos se sujetan firmemente
mediante pinzas y se mantiene un cierre hermético al aire
entre las cámaras por una junta blanda de caucho. Por el
10 centro del extremo de la cabeza de la cámara se inserta un
nebulizador a través de un cierre hermético al aire y cada
extremo de la caja tiene también una salida. Se inserta un
neumotacógrafo en un extremo de la caja y se acopla a un
transductor de presión volumétrica que se conecta a su vez
15 a un dinógrafo mediante los adaptadores apropiados.
Mientras el antígeno se aplica con aerosol, las salidas
están abiertas y el neumotacógrafo está aislado de la
cámara. Las salidas se cierran entonces y se conectan el
neumotacógrafo y la cámara durante el registro de los
20 patrones respiratorios. Para la estimulación provocada, se
colocan 2 ml de una solución al 3% de antígeno en solución
salina en cada nebulizador y se genera el aerosol con aire
desde una pequeña bomba de diafragma que funciona a 68,96
kPa y un caudal de 8 l/min.

25 Se sensibilizan cobayos inyectando por vía subcutánea
e intraperitoneal 1 ml de una suspensión que contiene 1 mg
de EA y 200 mg de hidróxido de aluminio en solución salina.
Se usan entre los días 12 y 24 después de la
sensibilización. Con el fin de eliminar el componente
30 histamínico de la respuesta, se tratan previamente los
cobayos intraperitonealmente, 30 minutos antes de la
estimulación provocada con aerosol, con 2 mg/g de
mepiarmina. Los cobayos se exponen entonces a un aerosol de
EA al 3% en solución salina exactamente durante 1 minuto y
35 luego se registran los perfiles respiratorios durante otros
30 minutos. A continuación, se determina la inflamación
pulmonar después de la muerte durante un período de 1 a 48

horas. La duración de la disnea continua se mide a partir de las medidas respiratorias.

Las combinaciones de ensayo de agentes terapéuticos de la presente invención se administran por lo general i.t. o por aerosol de 0,5 a 4 horas antes de la estimulación provocada. Las combinaciones de compuestos están disueltas en solución salina o en disolventes biocompatibles. La actividad de los compuestos se determina en base a su capacidad para reducir la magnitud y duración de los síntomas de disnea y broncoespasmos y/o la magnitud de la inflamación pulmonar en comparación con un grupo de control tratado con vehículos. Los ensayos de las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención se evalúan sobre una serie de dosis y se obtiene una ED₅₀ que se define como la dosis (mg/kg) que inhibirá la duración de los síntomas en un 50%.

Actividad antiinflamatoria - La actividad antiinflamatoria de las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención se demuestra por la inhibición de la activación de eosinófilos y neutrófilos. En este ensayo se obtienen muestras de sangre (50 ml) de voluntarios no atópicos con números de eosinófilos que varían de 0,06 a 0,47 x 10⁹ l⁻¹. Se recoge la sangre venosa en tubos de centrifuga que contienen 5 ml de citrato trisódico (3,8%, pH 7,4).

La sangre anticoagulada se diluye (1:1, v:v) con solución salina tamponada con fosfato (PBS, que no contiene calcio ni magnesio) y se estratifica sobre 15 ml de Percoll isotónico (densidad 1,082 - 1,085 g/ml, pH 7,4) en un tubo de centrifuga de 50 ml. Después de centrifugar (30 minutos, 1000 x g, 20°C) se aspiran cuidadosamente y se descartan las células mononucleares en la interfase plasma/Percoll.

El sedimento de neutrófilos/eosinófilos/eritrocitos (aproximadamente 5 ml en volumen) se resuspende suavemente en 35 ml de solución de cloruro amónico isotónico (NH₄Cl, 155 mM; KHCO₃, 10 mM; EDTA, 0,1 mM; 0-4°C). Después de 15 minutos, se lavan las células dos veces (10 min, 400 x g,

53 *ST*

4°C) en PBS que contenía suero bovino fetal (2%, FCS).

Se usa un sistema de separación magnético para separar los eosinófilos y neutrófilos. Este sistema puede separar las células en suspensión conforme a marcadores de superficie y comprende un imán permanente en el que se coloca una columna que incluye una matriz de acero magnetizable. Antes de usar, se equilibra la columna con PBS/FCS durante 1 hora y luego se infunde con PBS/FCS enfriada en hielo de una forma progresiva mediante una jeringa de 20 ml. Se fija una aguja hipodérmica 21G a la base de la columna y se deja que 1 a 2 ml de tampón enfriado en hielo salgan a través de la aguja.

Después de centrifugar los granulocitos, se aspira el líquido sobrenadante y se resuspenden suavemente las células con 100 µl de partículas magnéticas (anticuerpos monoclonales anti-DC16, conjugados con partículas superparamagnéticas). La mezcla de eosinófilos/neutrófilos/partículas magnéticas anti-CD16 se incuba en hielo durante 40 minutos y luego se diluye hasta 5 ml con PBS/FCS enfriado en hielo. La suspensión celular se introduce lentamente en la parte superior de la columna y se abre la tapa permitiendo que las células se muevan lentamente en la matriz de acero. La columna se lava entonces con PBS/FCS (35 ml) que se añaden cuidadosamente en la parte superior de la columna para no alterar los neutrófilos marcados magnéticamente atrapados en la matriz de acero. Los eosinófilos no marcados se recogen en un tubo de centrifuga de 50 ml y se lavan (10 minutos, 400 x g, 4°C). El sedimento resultante se resuspende en solución salina equilibrada de Hank (HBSS), de modo que se puedan valorar los números y pureza de las células antes de usar. La columna de separación se retira del imán y se eluye la fracción de neutrófilos. La columna se lava entonces con PBS (50 ml) y etanol (absoluto) y se almacena a 4°C.

Se realiza el recuento de células totales con un contador microcelular. Se añade una gota de solución lisógena a la muestra, que después de 30 segundos se vuelve

52
54

a contar para valorar la contaminación con eritrocitos. Se preparan frotis de citospina en un aparato Shandon Cytospin 2 Cytospinner (muestras de 100 μ l, 3 minutos, 500 rpm). Estas preparaciones se tiñen y se determinan los recuentos celulares diferenciales por microscopía visible, examinando al menos 500 células. Se valora la viabilidad celular por exclusión en azul de tripano.

Los eosinófilos y neutrófilos se diluyen en HBSS y se extraen con pipeta en placas de microvaloración de 96 pocillos (MTP) a $1-10 \times 10^3$ células/pocillo. Cada pocillo contiene una muestra de 200 μ l que comprende: suspensión celular, 100 μ l; HBSS, 50 μ l; lucigenina, 10 μ l; estímulo de activación, 20 μ l; y compuesto de ensayo, 20 μ l.

Las muestras se incuban con el compuesto de ensayo o vehículo durante 10 minutos antes de añadir un estímulo de activación fMLP (1-10 μ M) o C5a (1-100 nM) disuelto en dimetil sulfoxido y se diluye seguidamente en tampón, tal que la máxima concentración de disolvente usada es 1% (a 100 μ M de compuesto de ensayo). Se agitan las MTP para facilitar la mezcla de las células y el medio y se colocan las MTP en un luminómetro. Se mide la quimioluminiscencia total y el perfil temporal de cada pocillo simultáneamente durante 20 minutos y los resultados se expresan como unidades arbitrarias, o como un porcentaje de la quimioluminiscencia inducida por fMLP en ausencia de compuesto de ensayo. Los resultados se ajustan a la ecuación de Hill y se calculan los valores de IC_{50} automáticamente.

Por lo general, las combinaciones de los agentes terapéuticos de la presente invención son activas en el procedimiento de ensayo anterior en concentraciones en el intervalo de 0,0001 μ M a 0,5 μ M, siendo las realizaciones preferidas activas en concentraciones en el intervalo de 0,1 nM a 100 nM.

La actividad antiinflamatoria de las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención se demuestra

además por la inhibición de la extravasación de plasma en las vías respiratorias de ratas. En este ensayo se toma tejido traqueal y se determina el grado de pérdida de plasma. Este ensayo se refiere igualmente a otras 5 enfermedades inflamatorias crónicas de las vías respiratorias pero no se limita a COPD y por consiguiente no se recapitula en esta sección.

Se anestesian con pentobarbitona sódica ratas albinas en Wistar (150 a 200 g) o cobayos Dunkin-Hartley (450-600 10 g) y se instalan cánulas venosas y arteriales. Se administra i.v. colorante azul de Evans para ligar las proteínas plasmáticas (30 mg/kg). Después de 10 minutos, se administran los agentes de ensayo i.t. y 10 minutos después se administra capsaicina i.v. (30 ug/kg). 30 minutos 15 después se extirpa tejido traqueal, se extrae durante la noche en formamida y se lee la absorbancia a 620 nm. En algunos experimentos se invierte el orden de dosificación tal que los compuestos se administraron antes del azul de Evans y el estímulo inflamatorio.

20 En el modelo de ensayo anterior, las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención presentan actividad antiinflamatoria en dosis en el intervalo de 0,001 a 0,1 mg/kg i.t.

A partir de lo anterior puede observarse que las 25 combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención son útiles para el tratamiento de enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias u otros estados que impliquen obstrucción de las vías respiratorias. En particular, son útiles para el 30 tratamiento de asma bronquial.

A la vista de su actividad antiinflamatoria y de su influencia sobre la hiperreactividad de las vías respiratorias, las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención son útiles para el tratamiento, en 35 particular el tratamiento profiláctico, de enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias. Así, mediante una administración continuada y regular

SA
56

durante periodos prolongados de tiempo, las combinaciones de compuestos de la presente invención son útiles para proporcionar protección por anticipado contra la recurrencia de broncoconstricción u otros ataques
5 sintomáticos consecuencia de enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias. Las combinaciones de compuestos de la presente invención son también útiles para el control, alivio o reversión de estados basales de tales enfermedades.

10 Haciendo referencia a su actividad broncodilatadora, las combinaciones de agentes terapéuticos de la presente invención son útiles como broncodilatadores, por ejemplo, en el tratamiento de broncoconstricción crónica o aguda y para el tratamiento sintomático de enfermedades
15 obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias.

Las enfermedades obstructivas o inflamatorias a las que se aplica la presente invención incluyen: asma; neumoconiosis; neumonía eosinofílica crónica; enfermedad pulmonar o de las vías respiratorias obstructiva crónica
20 (COAD o COPD); y síndrome de dificultad respiratoria en el adulto (ARDS), así como la exacerbación de hiperreactividad de las vías respiratorias consecuencia de una terapia farmacológica, por ejemplo, terapia con aspirina o con agonistas β .

25 Los agonistas del receptor de adenosina A_2 , y los agonistas del receptor β_2 -adrenérgico de la presente invención se pueden administrar solos o combinados aunque por lo general se administrarán mezclados con un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente
30 aceptable.

Los agonistas del receptor de adenosina A_2 , y los agonistas del receptor β_2 -adrenérgico de la presente invención se administran preferiblemente por inhalación y se liberan convenientemente en forma de un polvo seco (solo
35 o mezclado, por ejemplo, una mezcla con lactosa) desde un inhalador de polvo seco o un pulverizador de aerosol desde un recipiente a presión, bomba, pulverizador, atomizador

CS
57

(preferiblemente un atomizador que use la electrodinámica para producir una niebla fina) o nebulizador con o sin el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluormetano, triclorofluormetano, 5 diclorotetrafluoreetano, un hidrofluoralcano tal como 1,1,1,2-tetrafluoreetano (HFA 134A[™]) o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluorpropano (HFA 227EA[™]), dióxido de carbono, otro hidrocarburo perfluorado tal como Perflubron[™] u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol a presión, la dosis 10 unitaria puede determinarse disponiendo una válvula para que libere una cantidad medida. El recipiente a presión, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador puede contener una solución o suspensión de compuesto activo, por ejemplo, usando una mezcla de etanol (opcionalmente, etanol 15 acuoso) o un agente adecuado para liberar por dispersión, solubilización o dilución y el propulsor como disolvente, que puede contener además un lubricante, por ejemplo, trioleato de sorbitán. Se pueden formular cápsulas, blisters y cartuchos (realizados, por ejemplo, en gelatina 20 o HPMC) para usar en un inhalador o insuflador que contengan una mezcla de polvo del compuesto de la invención, una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón y un modificador del comportamiento tal como l-leucina, manitol o estearato de magnesio.

25 Antes de usar en una formulación de polvo seco o en una formulación de suspensión para inhalación, el compuesto de la invención se micronizará hasta un tamaño adecuado para liberar por inhalación (de forma típica considerado al menos 5 micrómetros). La micronización se conseguirá por 30 una serie de procedimientos, por ejemplo, molino de chorro en espiral, molino de chorro en lecho fluido o usando cristalización en fluido supercrítico.

Una formulación en solución adecuada para usar en un atomizador que usa electrodinámica para producir una 35 niebla fina puede contener de 1 µg a 10 mg del compuesto de la invención por actuación y el volumen de cada actuación puede variar de 1 a 100 µl. Una formulación típica puede

comprender un compuesto de la invención, propilenglicol, agua estéril, etanol y cloruro sódico. Se pueden usar disolventes alternativos en lugar de propilenglicol, por ejemplo, glicerol o polietilenglicol.

5 Las formulaciones de aerosol o polvo seco se disponen preferiblemente de modo que cada dosis medida o "aplicación" contenga de 1 a 4000 μg de un compuesto de la invención para administrar al paciente. La dosis diaria total con un aerosol variará en el intervalo de desde 1 μg
10 a 20 mg, que se pueden administrar en una única dosis o, más normalmente, en dosis divididas durante todo el día.

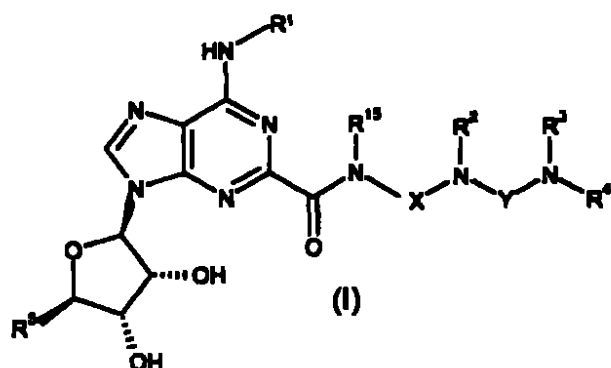
La relación preferida, en peso (p/p) de agonista del receptor de adenosina A_2 : agonista del receptor β_2 -adrenérgico usada dependerá de la combinación particular
15 que se examine. Esto se debe a las diferencias en la potencia farmacológica de los compuestos individuales. En cualquier caso, el médico determinará la dosis real de cada compuesto que será la más adecuada para un paciente particular y ésta variará con la edad, peso y respuesta del
20 paciente particular.

Se apreciará que todas las referencias en la presente memoria al tratamiento incluyen el tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.

SA
39

REIVINDICACIONES

1. Una combinación inhalada de (a) un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula



5 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que

R¹ es H, alquilo C₁-C₆ o fluorenilo, estando dicho alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de fenilo y naftilo, estando dichos fenilo y naftilo
10 opcionalmente sustituidos con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo o ciano;

(A) R² es H o alquilo C₁-C₆, R¹⁵ es H o alquilo C₁-C₆ y X es (i) alquileno C₂-C₃ no ramificado, opcionalmente
15 sustituido con alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₈, o (ii) un grupo de fórmula:



en la que W es cicloalquileno C₃-C₇ opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, n es 0 ó 1 y p es 0 ó 1, o

20 (B) R¹⁵ es H o alquilo C₁-C₆, y R² y X, tomados junto al átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidín-3-ilo, pirrolidín-3-ilo, piperidín-3-ilo, piperidín-4-ilo, homopiperidín-3-ilo u homopiperidín-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con
25 alquilo C₁-C₆, o

(C) R² es H o alquilo C₁-C₆, y R¹⁵ y X, tomados junto al átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidín-3-ilo, pirrolidín-3-ilo, piperidín-3-ilo, piperidín-4-ilo, homopiperidín-3-ilo u homopiperidín-
30 4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con

SS
60

alquilo C₁-C₆;

cualquiera de R³ y R⁴, tomados junto al átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidínico, pirrolidinico, piperidinico, piperazínico, homopiperidinico u homopiperazínico, estando cada uno opcionalmente sustituido en un átomo de nitrógeno o de carbono de anillo con alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₈ y opcionalmente sustituido en un átomo de carbono de anillo no adyacente a un átomo de nitrógeno de anillo con -NR⁶R⁷,

o, R³ es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o bencilo y R⁴ es

(a) azetidínico-3-ilo, pirrolidin-3-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-4-ilo, homopiperidin-3-ilo u homopiperidin-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, bencilo o het, o

(b) -(alquilenos C₂-C₆)-R⁸,

(c) -(alquilenos C₁-C₆)-R¹³, o

(d) alquilo C₁-C₆ o cicloalquilo C₃-C₈;

R⁵ es CH₂OH o CONR¹⁴R¹⁴;

cada uno de R⁶ y R⁷ representa independientemente H o alquilo C₁-C₆ o, tomados junto con el átomo de nitrógeno al que se encuentran unidos, representan azetidínico, pirrolidinico o piperidinico, estando dichos azetidínico, pirrolidinico o piperidinico opcionalmente sustituidos con alquilo C₁-C₆;

R⁸ es (i) azetidínico-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolínico-4-ilo, piperazínico-1-ilo, homopiperidin-1-ilo, homopiperazínico-1-ilo o tetrahidroisoquinolínico-1-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido sobre un átomo de carbono de anillo con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, (alcoxi C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆), R⁹R⁹N-(alquilo C₁-C₆), fluoro(alquilo C₁-C₆), -CONR⁹R⁹, -COOR⁹ o alcanóilo C₂-C₅, y opcionalmente sustituido sobre un átomo de carbono de anillo no adyacente a un átomo de nitrógeno de anillo con fluoro(alcoxi C₁-C₆), halo, -OR⁹, ciano, -S(O)_mR¹⁰, -NR⁹R⁹, -SO₂NR⁹R⁹, -NR⁹COR¹⁰ o -NR⁹SO₂R¹⁰, y estando dichos piperazínico-1-ilo y homopiperazínico-1-ilo opcionalmente sustituidos en el

SA
61

- átomo de nitrógeno de anillo no unido al grupo alquileo C₂-C₆ con alquilo C₁-C₆, fenilo, (alcoxi C₁-C₆) (alquilo C₂-C₆), R⁹R⁹N-(alquilo C₁-C₆), fluoro(alquilo C₁-C₆), alcanóilo C₂-C₅, -COOR¹⁰, cicloalquilo C₃-C₈, -SO₂R¹⁰, -SO₂NR⁹R⁹ o
- 5 -CONR⁹R⁹, o
- (ii) NR¹¹R¹²;
- R⁹ es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o fenilo;
- R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o fenilo;
- R¹¹ es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈ o bencilo;
- 10 R¹² es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, bencilo, fluoro(alquilo C₁-C₆), -CONR⁹R⁹, -COOR¹⁰, alcanóilo C₂-C₅ o -SO₂NR⁹R⁹;
- R¹³ es (a) fenilo, piridin-2-ilo, piridin-3-ilo o piridin-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido
- 15 con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, -(alquileo C₁-C₃)-(alcoxi C₁-C₆), halo, ciano, -(alquileo C₁-C₃)-CN, -CO₂H, -(alquileo C₁-C₃)-CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -(alquileo C₁-C₃)-CO₂-(alquilo C₁-C₆), -(alquileo C₁-C₃)-NR¹⁴R¹⁴, -CONR¹⁴R¹⁴ o -(alquileo C₁-C₃)-CONR¹⁴R¹⁴, o (b) azetidin-2-ilo,
- 20 azetidin-3-ilo, pirrolidin-2-ilo, pirrolidin-3-ilo, piperidin-2-ilo, piperidin-3-ilo, piperidin-4-ilo, homopiperidin-2-ilo, homopiperidin-3-ilo u homopiperidin-4-ilo, estando cada uno opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, fenilo, bencilo o het;
- 25 R¹⁴ es H o alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con ciclopropilo;
- m es 0, 1 ó 2;
- Y es CO, CS, SO₂ o C=N(CN); y
- "het", usado en la definición de R⁴ y R¹³, es un anillo
- 30 de 4 a 6 miembros unido por C, heterociclo que tiene de 1 a 4 heteroátomos de nitrógeno de anillo o 1 ó 2 heteroátomos de anillo nitrógeno y 1 heteroátomo de anillo oxígeno o 1 azufre, opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₈, alcoxi C₁-C₆, cicloalcoxi C₃-C₈, hidroxilo,
- 35 oxo o halo;
- y (b) un agonista del receptor β₂-adrenérgico.
2. Una combinación según la reivindicación 1, en la

60
62

que el agonista del receptor de adenosina A_2 , de formula (I) es 6-[(2,2-difeniletíl)amino]-9-[(2R,3R,4S,5S)-5-[(etíl-amino)carbonil]-3,4-dihidroxitetrahidro-2-furanil]-N-{2-[[[1-(2-piridinil)-4-piperidinil]amino]carbonil]-

5 amino]etil}-9H-purina-2-carboxamida o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

3. Una combinación según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el agonista del receptor β_2 -adrenérgico es salmeterol o una de sus sales o solvatos
10 farmacéuticamente aceptables.

4. Una combinación según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el agonista del receptor β_2 -adrenérgico es formoterol o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

15 5. Una combinación según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para usar como medicamento.

6. Una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la administración simultánea, secuencial o por separado en el tratamiento de una
20 enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

7. Una composición farmacéutica que comprende un agonista del receptor de adenosina A_2 , de fórmula (I), según se define en la reivindicación 1, un agonista del
25 receptor β_2 -adrenérgico y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para administración por vía inhalada en el tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

30 8. Una composición farmacéutica según la reivindicación 7, en la que el agonista del receptor de adenosina A_2 , de fórmula (I) y el agonista del receptor β_2 -adrenérgico son como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.

35 9. Uso de un agonista del receptor de adenosina A_2 , de fórmula (I), como se define en la reivindicación 1 o de un agonista del receptor β_2 -adrenérgico, en la fabricación

de un medicamento para la administración simultánea, secuencial o por separado de ambos agentes por vía inhalada en el tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

5 10. Uso según la reivindicación 9, en el que el agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I) y el agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico son como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.

10 11. Un procedimiento para tratar una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria, que comprende administrar de forma simultánea, secuencial o por separado, por vía inhalada, a un mamífero que necesita dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de
15 fórmula (I), como se define en la reivindicación 1 y un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico.

20 12. Un procedimiento según la reivindicación 11, en el que el agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I) y el agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico son como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.

25 13. Un dispositivo de inhalación para la administración simultánea, secuencial o por separado de un agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I), como se define en la reivindicación 1 y un agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico; en el tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

30 14. Un dispositivo según la reivindicación 13, en el que el agonista del receptor de adenosina A_{2a} de fórmula (I) y el agonista del receptor $\beta 2$ -adrenérgico son como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4.

62
64

COMBINACIÓN FARMACÉUTICA

RESUMEN

La presente invención se refiere a una combinación que
comprende (a) un agonista del receptor de adenosina A₂,
5 como se define en la presente memoria y (b) un agonista del
receptor β 2-adrenérgico, para la administración simultánea,
secuencial o por separado por vía inhalada en el
tratamiento de una enfermedad obstructiva de las vías
respiratorias u otra enfermedad inflamatoria.

10

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

MD - DH - Fresnes

DH.12
NSR
65

PCT

To: RUDDOCK, Keith S. PFIZER LIMITED Ramegate Road Sandwich Kent CT13 9NJ GRANDE BRETAGNE		RECEIVED ON 14 OCT 2003 2. OCT. 2003 Patents. Fresnes		UK PATENT DEPT. OF TRADE NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT (PCT Rule 71.1)	
Applicant's or agent's file reference PCS22049AAJR		IMPORTANT NOTIFICATION			
International application No. PCT/IB02/05057	International filing date (day/month/year) 28.11.2002	Priority date (day/month/year) 08.12.2001			
Applicant PFIZER LIMITED et al.					

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report 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/IB501).

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 examination report. 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 inventions 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 international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2369 - 0 Tlx 523655 epmu d Fax +49 89 2369 - 4485	Authorized Officer Gallego, A Tel. +49 89 2369-6102	
---	--	---

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)64
66

Applicant's or agent's file reference PCS22048AAJR	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEA/16)	
International application No. PCT/IB02/05057	International filing date (day/month/year) 28.11.2002	Priority date (day/month/year) 06.12.2001
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC A61K31/70		
Applicant PFIZER LIMITED et al.		
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 38. 2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 807 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of sheets.		
3. This report contains indications relating to the following items: I ☒ Basis of the opinion II ☐ Priority III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Rule 68.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand 18.12.2002	Date of completion of this report 10.10.2003	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80289 Munich Tel. +49 89 2369 - 0 Tx: 523658 apmu d Fax: +49 89 2369 - 4485	Authorized Officer Klein, D Telephone No. +49 89 2369-7886 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/IB02/05057**

63

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the International application (*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 since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17)*):

Description, Pages

1-91 as originally filed

Claims, Numbers

1-14 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
☒ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
☐ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:
☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/IB02/05057**

68

**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)	Yes: Claims	1-14
	No: Claims	—
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-14
	No: Claims	—
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-10,13-14
	No: Claims	11-12

2. Citations and explanations

see separate sheet

67
69

Re Item I

Description, pages:

1-91 as originally filed

Claims, No.:

1-14 as originally filed

Re Item V

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

Reference is made to the following documents:

D1: US 2001/020089 A1 (STEPHENSON PETER THOMAS ET AL) 6 September 2001 (2001-09-06)

D2: WO 01 94368 A (STEPHENSON PETER THOMAS ;PFIZER LTD (GB); MANTELL SIMON JOHN (GB);) 13 December 2001 (2001-12-13)

Novelty (art. 33(2) PCT) :

The subject-matter of the present application discloses a combination of a purine derivative modified in position 4, as an adenosine A2a receptor agonist, with a β 2 adrenergic receptor agonist.

Since none of the available prior art discloses the subject-matter of the present application, claims 1-14 are considered new.

Inventive step (art. 33(3) PCT) : :

D1, which is considered to represent the closest prior art discloses purine derivatives modified in position 4, as an adenosine A2a receptor agonist, and states that these compounds, when used against respiratory diseases, are co-prescribed with β 2 agonists.

The purine derivatives of the present application differ structurally in the nature of the side chain in position 4.

The problem to be solved in the present application can be regarded as providing alternative compositions against respiratory diseases.

Since the modified side chains of the compounds of the present application cannot be deduced from the prior art, the subject-matter of the present application is considered

**WRITTEN OPINION
SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/IB02/05057

BB
70

Inventive.

Nevertheless, the following remark needs to be taken into consideration :

D2 which is an intermediate document, filed on 05.06.2001, published on 13.12.2001 and claiming a priority right on 06.06.2000, is not prior art according to the Chap II PCT proceedings. Further, its content will not affect the novelty of the regional European proceeding to come because the compounds of the present application, which are the same as the one from D2, are claimed in combination with a $\beta 2$ adrenergic receptor agonist.

Nevertheless, the extensive examination of that document, on the question whether it constitutes prior art or not, will depend essentially on the analysis of the claimed priority rights of the present application and will only be performed in the regional European proceedings to come.

Industrial applicability (art. 33(4) PCT) : :

For the assessment of the present claims 11-12 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PCS22049AAJR	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/IB 02/ 05057	International filing date (day/month/year) 28/11/2002	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 06/12/2001
Applicant PFIZER LIMITED		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

☐ the text is approved as submitted by the applicant.

☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

PHARMACEUTICAL COMBINATIONS OF ADENOSINE A-2A AND BETA-2-ADRENERGIC RECEPTOR AGONISTS

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/IB 02/05057

72

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/70 C07H19/16

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)

IPC 7 A61K C07H

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2001/020089 A1 (STEPHENSON PETER THOMAS ET AL) 6 September 2001 (2001-09-06) the whole document, in particular page 1 column 1 lines 40-42	1-14
P, X	WO 01 94368 A (STEPHENSON PETER THOMAS ; PFIZER LTD (GB); MANTELL SIMON JOHN (GB);) 13 December 2001 (2001-12-13) the whole document	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.*** Special categories of cited documents:**

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "B" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 February 2003

Date of mailing of the international search report

26/02/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentplan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Klein, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/IB 02/05057

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2001020089	A1	06-09-2001	AU 3044001 A	27-08-2001
			BR 0108408 A	26-11-2002
			EP 1255764 A1	13-11-2002
			WO 0160835 A1	23-08-2001
			NO 20023894 A	01-10-2002
WO 0194368	A	13-12-2001	AU 6053701 A	17-12-2001
			WO 0194368 A1	13-12-2001
			US 2002058641 A1	16-05-2002

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

72
74

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the PCT Applicant's Guide, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the letter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only.

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/ may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

73
75

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the same time of filing the amendments with the International Bureau, also file a copy of such amendments with the International Preliminary Examining Authority (see Rule 62.2(a), first sentence).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, where upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Office, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

74
26

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION	()	()
- 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:

Fecha:

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 04032106 00000000 Folios 73
Fecha (AMD): 2004-05-03 17:04:36
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES



2020
Bogotá, D.C.,

00883

Doctor:
CARLOS R. OLARTE.
Apoderado
PFIZER INC

Oficio N°

ASUNTO:	Radicación N°	04-52108
	Solicitud internacional	PCT/IB2002/05057
	Fecha inicio fase nacional	08/07/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

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

- ☐ El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9).

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

23 JUL. 2020

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.