



No. 13-106722- -00000-0000

Fecha: 2013-04-26 16:25:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **“DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA
UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA”.**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **C07D 487/04**

71. SOLICITANTE **RESPIVERT LIMITED**

DOMICILIO **BUCKINGHAMSHIRE, REINO UNIDO**

74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. _____

Fecha: 2013-04-26 16:25:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/GB2011/052015	Fecha 18/10/11
Publicación Internacional No.		WO 2012/052753 A1	Fecha 26/04/12
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCION:		
"DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA"			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP		
C07D 487/04			
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
4.	RESPIVERT LIMITED		
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
50-100 Holmers Farm Way, High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG, Reino Unido.		3264270	
CIUDAD		E-MAIL	
Buckinghamshire		notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
Reino Unido		Inglaterra y Gales.	
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1	KING-UNDERWOOD	John	Reino Unido
2	ITO	Kazuhiro	Japón
3	MURRAY	Peter John	Reino Unido
4	HARDY	George	Reino Unido
5	BROOKFIELD	Frederick Arthur	Reino Unido
6	BROWN	Christopher John	Reino Unido
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificacionespatentes@lloredacamacho.com			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
Reino Unido		Worcestershire	1 Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire GL19 3PW, Reino Unido.
		Imperial College London	2. c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ, Reino Unido.
		Imperial College London	3 c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ, Reino Unido.
		East Sussex	4. Sunny Bank, Brightling Road, Robertsbridge, East Sussex TN32 5EJ, Reino Unido.
		Oxfordshire	5 c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido.
		Oxfordshire	6. c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido.
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	(74) ☒ REPRESENTANTE ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LLOREDA RICAURTE		ALICIA	C.C 39.690.713 T.P. 53.215
DIRECCIÓN	Calle 72 No 5-83 Piso 5to	No. TELÉFONO	3264270
CIUDAD	Bogotá	E-MAIL	notificacionespatentes@lloredacamacho.com
PAÍS	Colombia	No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. Taiwán 2. Oficina Europea de Patentes		TW EP	099135360 PCT/EP2010/065746	10/10/18 10/10/19
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas	Entidades sin ánimo de lucro	
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar	
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de Internet.				
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 13-0035194	Fecha 15-04-2013	
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)			
 ALICIA LLOREDA RICAURTE Representante C.C. 39.690.713 T.P. 53.215 Apoderado				
16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
Solicitud Internacional en castellano				
1. ☒ Descripción N° de folios: 44		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.		
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 7		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
3. ☐ Dibujos y/o figuras N° folios:		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.		
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
7. ☒ Arte final 12 x 12.		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.		
8. ☒ Anexo formato digital.		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

•

VER ANEXO CD

•

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0035194

Bogotá D.C., Abril 15 de 2013 - 16:49:09

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A.

NI 830.022.145

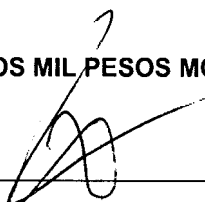
*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	561170201	15/04/2013	15.484.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1. TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
			\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-106722- -00000-0000

Fecha: 2013-04-26 16:25:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

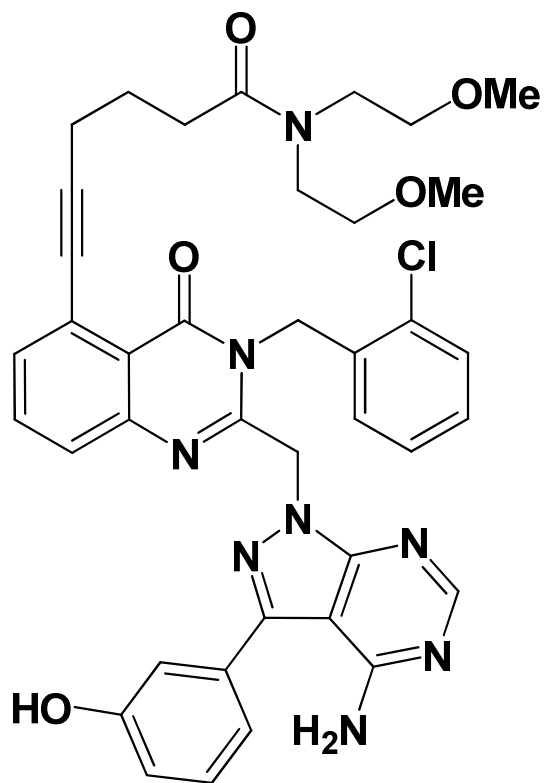
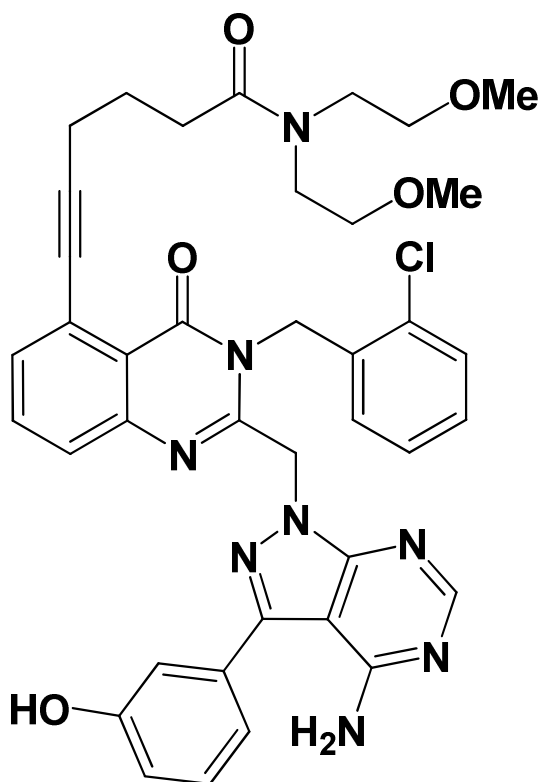
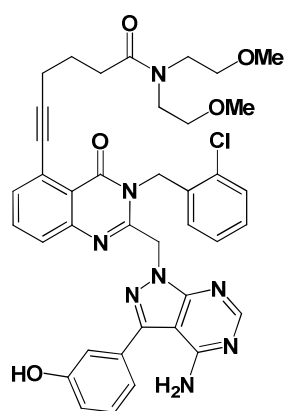
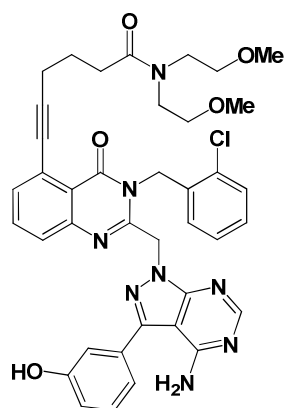
☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen).
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño Industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

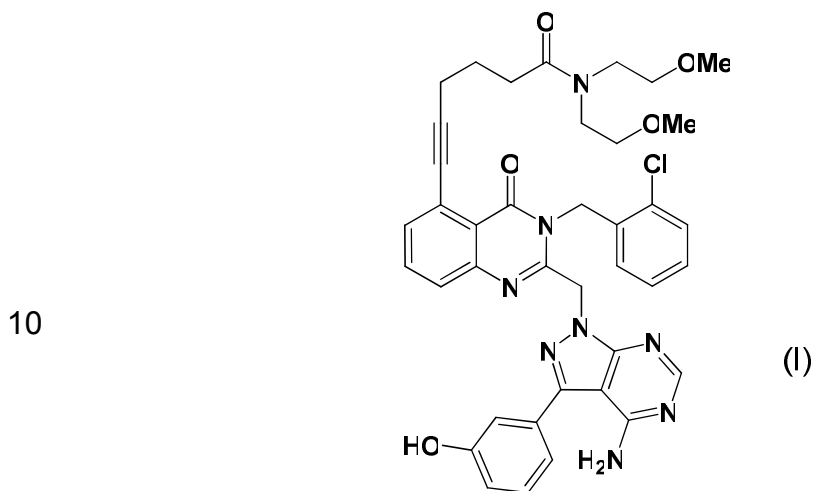
☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



**DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO
INHIBIDORES DE PI3 CINASA**

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere al compuesto de la fórmula (I)



y a composiciones que comprenden el mismo y al uso del compuesto y a composiciones del compuesto en el tratamiento, por ejemplo en el tratamiento
15 de enfermedades inflamatorias, en particular enfermedad inflamatoria respiratoria; la invención también se extiende a métodos para elaborar dicho compuesto.

SECTOR: Un compuesto de fórmula (I) y composiciones del mismo, el cual
20 inhibe las fosfoinositida 3-cinasas, (PI3 cinasas), en particular el subtipo delta de PI3 cinasa.

DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA

CAMPO DE LA INVENCION

5

La invención se refiere a un compuesto que inhibe las fosfoinositida 3-cinasas, (PI3 cinasas). En particular la invención se refiere a un compuesto que inhibe el subtipo delta de PI3 cinasa y, además, los subtipos gamma y alfa de la misma, y a su uso en terapia, incluyendo en combinaciones farmacéuticas, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tal como EPOC y asma. La descripción también se extiende a métodos para preparar dicho compuesto y composiciones farmacéuticos que comprenden el mismo.

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las cinasas lipídicas catalizan la fosforilación de lípidos para producir especies implicadas en la regulación de una amplia gama de procesos fisiológicos, incluyendo migración y adhesión celulares. Las PI3-cinasas son proteínas relacionadas con membranas y pertenecen a esta clase de enzimas que catalizan las fosforilación de lípidos que por sí mismos se relacionan con membranas celulares. La isoenzima PI3-cinasa delta (δ)

(PI3 cinasa δ) es una de cuatro isoformas de PI3 cinasas tipo I responsable de generar varias fosfoinositidas 3'-fosforiladas, que median la señalización celular y se han implicado en un número de procesos celulares tal como inflamación, señalización del factor de crecimiento, transformación maligna e inmunidad [Véase Review por Rameh, L. E. y Cantley, L. C. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274:8347-8350].

La participación de PI3 cinasas para controlar la inflamación se ha confirmado en varios modelos utilizando inhibidores de pan-PI3 cinasa, tales como LY-294002 y wortmanina [Ito, K. *et al.*, *J Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007, 321:1-8]. Se han realizado estudios recientes utilizando inhibidores selectivos de PI3 cinasa o en ratones knock-out que carecen de una isoforma enzimática específica. Estos estudios han demostrado el papel de trayectorias controladas por enzimas PI3 cinasa en la inflamación. Se encontró que el inhibidor PI3 cinasa δ selectivo IC-87114 inhibe la hiper respuesta de las vías respiratorias, liberación de IgE, expresión pro-inflamatoria de citocina, acumulación celular inflamatoria en el pulmón y permeabilidad vascular en ratones sensibilizados con ovalbúmina, desafiados con ovalbúmina [Lee, K. S. *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, 118:403-409 y Lee, K. S. *et al.*, *FASEB J.*, 2006, 20:455-65]. Además, IC-87114 bajó la acumulación de neutrófilos en los pulmones de ratones y función de neutrófilos, simuladas por TNF α [Sadhu, C. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, 308:764-9]. La isoforma PI3 cinasa δ se activa por insulina y otros factor de crecimiento, como también por citocinas inflamatorias y de

señalización de proteína acoplada a la proteína G. Recientemente se reportó que el inhibidor PI3 cinasa doble δ/γ TG100-115 inhibe la eosinofilia pulmonar e interleucina-13 como también la acumulación de mucina e hiper respuesta de las vías respiratorias en un modelo de murino, cuando se administra por aerosolización. Los mismos autores también reportaron que el compuesto era
5 capaz de inhibir la neutrofilia pulmonar obtenida por LPS o humo de cigarro [Doukas, J. *et al.*, *J Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009, 328:758-765]

Ya que también se activa por estrés oxidativo, es probable que la isoforma PI3 cinasa δ sea relevante como un objetivo para la intervención
10 terapéutica en aquellas enfermedades en donde está implicado un alto nivel de estrés oxidativo. Los mediadores corriente abajo de la trayectoria de transducción de la señal PI3 cinasa incluye Akt (una proteína cinasa de serina/treonina) y el objetivo mamífero de rapamicina, la enzima mTOR. Un estudio reciente ha sugerido que la activación de la PI3 cinasa δ , que conduce
15 a la fosforilación de Akt, es capaz de inducir un estado de resistencia a corticoesteroides en células de otra forma sensibles a corticoesteroides [To, Y. *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, 182:897-904]. Estas observaciones han conducido a la hipótesis de que esta cascada de señalización podría ser un mecanismo responsable para la insensibilidad a
20 corticoesteroides de la inflamación observada en los pulmones de pacientes que padecen de EPOC, como también aquellos asmáticos que fuman, sometiendo así a sus pulmones a estrés oxidativo incrementado. De hecho, se ha sugerido que la teofilina, un compuesto utilizado en el tratamiento tanto de

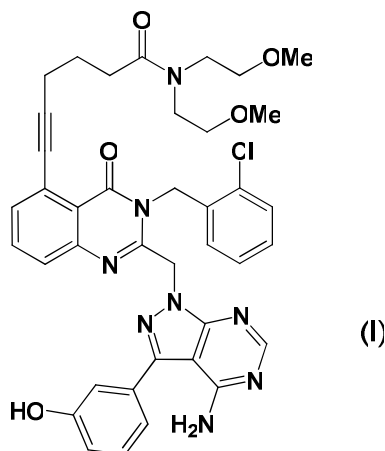
EPOC como de asma, invierte la insensibilidad a esteroides a través de mecanismos que implican la interacción con trayectorias controladas por PI3 cinasa δ [To, Y. *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, 182:897-904].

En la actualidad el fundamento principal del tratamiento tanto para asma como para EPOC es terapia inhalada, utilizando una combinación de corticoesteroides, antagonistas muscarínicos y β_2 -agonistas, como se juzga clínicamente apropiado. Una forma de abordar las necesidades médicas no satisfechas en EPOC y asma es identificar nuevos agentes terapéuticos, por ejemplo adecuados para el uso como medicinas inhaladas, que tienen el potencial de proporcionar beneficio significativo cuando se utilizan como una monoterapia o en combinación con uno o más medicamentos de estas tres clases farmacológicas. Por lo tanto, permanece la necesidad de identificar y desarrollar inhibidores PI3 cinasa selectivos de la isoforma que tienen el potencial de proporcionar eficacia terapéutica mejorada en asma, EPOC y otras enfermedades inflamatorias.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

De acuerdo con la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I):

5



que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-
10 inamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, incluyendo todos los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de los mismos.

El compuesto de la presente descripción es un inhibidor doble dual PI3K delta PI3K gamma.

El término inhibidor como se emplea en la presente pretende
15 referirse a un compuesto que reduce (por ejemplo al menos 50%) o elimina la actividad biológica de la proteína objetivo, por ejemplo la isoenzima PI3K delta, en una prueba de enzima *in vitro*.

El término inhibidor delta/gamma como se emplea en la presente se refiere al hecho de que el compuesto inhibe, hasta cierto punto, ambas
20 isoformas enzimáticas aunque no necesariamente al mismo grado.

El compuesto de la presente descripción es activo en sistemas de detección basado en células y la terapia demuestra que posee propiedades adecuadas para penetrar las células y de este modo ejercer los efectos

farmacológicos intracelulares.

El compuesto de la presente descripción tiene propiedades terapéuticamente relevantes y farmacéuticas deseables, por ejemplo, estabilidad adecuada, solubilidad y actividad potente.

5 En una modalidad se proporciona una sal ácida de adición farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención.

Las sales ácidas de adición farmacéuticamente aceptables como se mencionó anteriormente en la presente pretenden comprender las sales ácidas de adición no tóxicas, terapéuticamente activas que el
10 compuesto de fórmula (I) es capaz de formar. Estas sales ácidas de adición farmacéuticamente aceptables se pueden obtener convenientemente al tratar la forma de base libre del compuesto de fórmula (I) con dicho ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, y ácidos sulfúrico y fosfórico y
15 similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, malónico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metansulfónico, *para*-toluensulfónico, ciclámico, salicílico, *para*-aminosalicílico, pamoico y similares.

Ejemplos de sales del compuesto (I) incluyen todas las sales
20 farmacéuticamente aceptables, como sin limitación, sales ácidas de adición de los ácidos de minerales, tales como las sales de HCl y HBr y sales de adición de ácidos orgánicos, tales como una sal de ácido metansulfónico. Ejemplos adicionales incluyen sales de ácido sulfúrico y sales de ácido fosfórico.

En una modalidad se proporciona clorhidrato de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida.

En una modalidad se proporciona bromhidrato de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida.

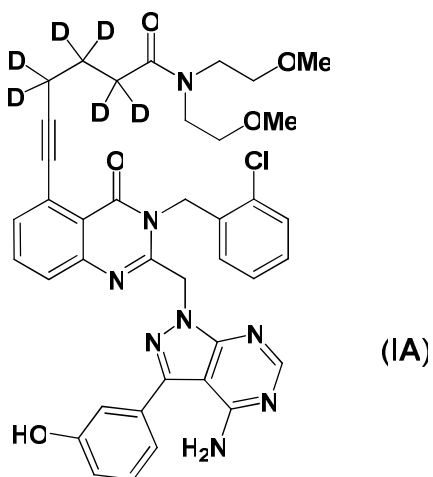
En una modalidad se proporciona tosilato de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-*N,N*-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida.

10 La descripción también se extiende a solvatos de los compuestos de la presente. Ejemplos de solvatos incluyen hidratos.

Los compuestos de la descripción incluyen aquéllos donde el átomo especificado es un isótopo que sucede naturalmente o no. En una modalidad, el isótopo es un isótopo estable. De este modo, los compuestos de la descripción incluyen, por ejemplo aquellos que contienen uno o más átomos de deuterio en lugar de átomos de hidrógeno y similares.

En una modalidad de la invención en donde el compuesto de la fórmula (I) es un compuesto marcado de deuterio, el compuesto isotópicamente marcado es el derivado de hexadeuterio de fórmula (IA).

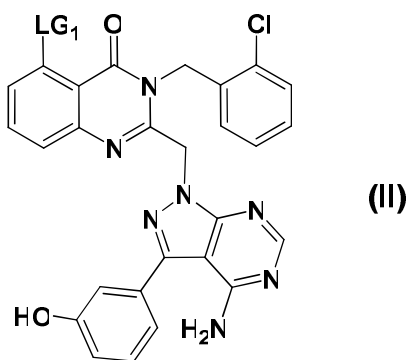
5



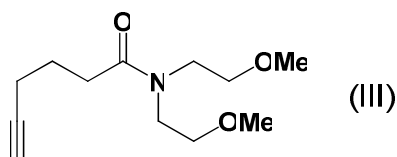
La descripción también se extiende a todas las formas
10 polimórficas de los compuestos definidos en la presente.

El compuesto de la fórmula (I) se puede preparar
convenientemente por medio de un procedimiento que comprende hacer
reaccionar un compuesto de fórmula (II):

15



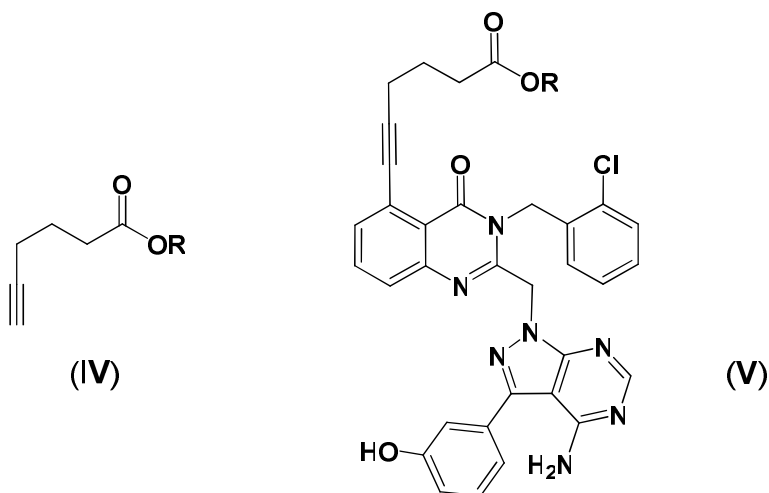
20 o un derivado protegido del mismo, en donde LG_1 representa un grupo
saliente tal como halo, en particular bromo, con un compuesto de fórmula (III):



5 en presencia de un catalizador adecuado y una base orgánica y en un
 solvente aprótico polar bajo una atmósfera inerte. Los catalizadores
 adecuados incluyen catalizadores de paladio tales como dicloruro de
bis(trifenilfosfina)paladio (II), en presencia de yoduro de cobre y un solvente
 aprótico polar adecuado es DMF. Una atmósfera inerte adecuada es
 10 nitrógeno.

Alternativamente el compuesto de fórmula (I) se puede preparar
 por un procedimiento que comprende hacer reaccionar un compuesto de
 fórmula (II) o un derivado protegido del mismo con un compuesto de fórmula
 (IV):

15



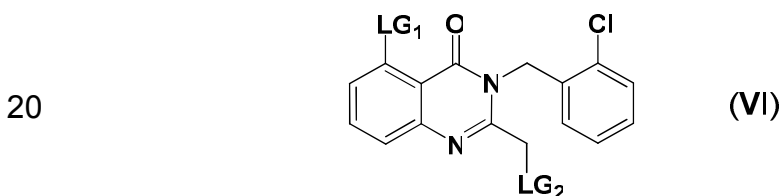
20

en donde R es de manera adecuada H para proporcionar un compuesto de

fórmula (V) o un derivado protegido del mismo. El compuesto de fórmula (I) entonces se obtiene del compuesto de fórmula (V) por una o más transformaciones del grupo funcional estándar. Por ejemplo en donde R es H el compuesto de fórmula (I) puede generarse del compuesto de fórmula (V) por una reacción de acoplamiento de amida con una amina, de manera más adecuada con bis(2-metoxietil)amina.

Para los procedimientos sintéticos en donde el compuesto de fórmula (II) es un derivado protegido, el compuesto de fórmula (I) se revela por un paso de desprotección adecuado, como se conoce bien y se practica en la técnica. Por ejemplo cuando el fenol presente en el compuesto de fórmula (I) se protege con un grupo sililo, por ejemplo con un grupo *tert*-butildimetilsililo el paso de desprotección se puede llevar a cabo por medio del tratamiento con un reactivo tal como fluoruro de tetrabutilamonio en presencia de un solvente aprótico polar tal como DMF. La reacción se puede realizar a una temperatura reducida, tal como aproximadamente 0°C.

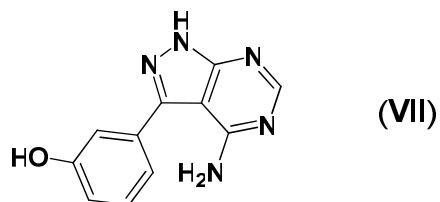
Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VI):



o un derivado protegido del mismo, en donde LG₁ es un grupo saliente, como se definió en la presente con anterioridad para los compuestos de fórmula (II)

y LG₂ también es un grupo saliente tal como halo, por ejemplo un átomo de halógeno y de manera adecuada un cloro, con un compuesto de fórmula (VII):

5



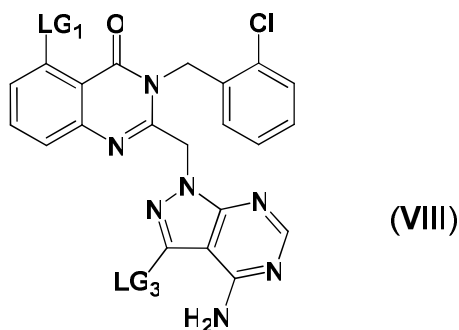
o un derivado protegido del mismo, en presencia de una base y en un solvente aprótico polar.

Las bases adecuadas para esta transformación incluyen
10 carbonato de potasio y un solvente aprótico polar adecuado es DMF.

Los procedimientos sintéticos incluyen aquellos para los cuales se cree ventajoso proteger el hidroxilo fenólico del compuesto de fórmula (VII) durante el paso de acoplamiento y los derivados protegidos adecuados incluyen un *terc*butildimetilsilil éter y un *terc*-butil éter.

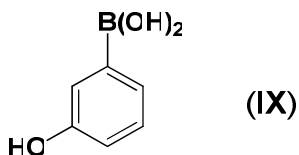
15 Alternativamente los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII):

20



o un derivado protegido del mismo, en donde LG₁, es como se definió

anteriormente para los compuestos de fórmula (II) y LG₃ representa un grupo saliente tal como halo, en particular yodo, con un compuesto de fórmula (IX):



5

o un derivado protegido del mismo, en presencia de un catalizador de metal noble adecuado, una base inorgánica y un solvente prótico polar, bajo una atmósfera inerte; seguido, en donde sea apropiado, por desprotección.

Un catalizador adecuado es tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0).

10

Una base inorgánica adecuada es carbonato de sodio y un solvente prótico polar adecuado es etanol.

La reacción se puede realizar a una temperatura elevada, por ejemplo a 85°C durante un periodo extendido tal como, por ejemplo, 3 días antes de enfriar a TA.

15

Pueden ser ventajosos grupos protectores para enmascarar los grupos químicamente sensibles durante una o más de las secuencias de reacción descritas anteriormente, para asegurar que uno o más procedimientos sean eficientes. De este modo, si se desea o es necesario, los compuestos intermediarios pueden estar protegidos por el uso de grupos protectores convencionales. Los grupos protectores y medios para su remoción se describen en "Protective Groups in Organic Synthesis", por Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts, publicado por John Wiley & Sons Inc, 4^a Ed. Rev., 2006, ISBN-10: 0471697540.

20

Los intermediarios novedosos se reclaman como un aspecto de la invención.

De manera ventajosa, los compuestos de la presente invención no exhiben atropisomerismo.

5 En un aspecto, el compuesto es útil en el tratamiento, por ejemplo, de EPOC y/o asma.

Los compuestos PI3K desarrollados hasta la fecha han sido por lo general destinados a la administración oral. Normalmente esta estrategia implica la optimización de un perfil farmacocinético del compuesto para lograr
10 una duración adecuada de acción. De esta manera se establece una concentración de fármaco suficientemente alta y se mantiene entre dosis para proporcionar beneficio clínico continuo. Una consecuencia inevitable y con frecuencia no deseada de este enfoque es que los tejidos corporales no dirigidos, especialmente el hígado y el intestino, son propensos a ser
15 expuestos a concentraciones farmacológicamente activas del fármaco.

Una estrategia alternativa consiste en diseñar los regímenes de tratamiento en los que se dosifica el fármaco directamente en el órgano inflamado (por ejemplo, terapia tópica). Aunque este enfoque no es adecuado para el tratamiento de todas las condiciones inflamatorias crónicas, éste ha
20 sido ampliamente explotado para tratar enfermedades pulmonares (asma, EPOC), lesiones de la piel (dermatitis atópica y psoriasis), enfermedades nasales (rinitis alérgica) y trastornos gastrointestinales (colitis ulcerativa).

En la terapia tópica, la eficacia deseada puede lograrse algunas

veces al asegurar que el fármaco tiene una duración sostenida de acción y se retiene predominantemente en el órgano objetivo, reduciendo así al mínimo los riesgos de toxicidad sistémica. Alternativamente una formulación apropiada puede ser utilizada la cual genere un "depósito" del fármaco activo
5 que entonces está disponible para sostener los efectos deseados. El primer enfoque se ejemplifica en el uso del bromuro de tiotropio del fármaco anticolinérgico (Spiriva HandiHaler®), que se administra tópicamente al pulmón como un tratamiento para EPOC. Este compuesto tiene una afinidad excepcionalmente alta para su receptor objetivo que tiene como resultado una
10 constante de disociación muy lenta (la constante de disociación) y una duración sostenida consecuente de acción.

Se proporciona de acuerdo con un aspecto de la presente descripción el uso del compuesto de fórmula (I) o una formulación adecuada derivada de la misma, como un inhibidor PI3 cinasa, por ejemplo que se
15 administra tópicamente al pulmón.

En un aspecto de la descripción el compuesto en este documento es especialmente adecuado para el suministro tópico, tal como suministro tópico a los pulmones, en particular para el tratamiento de EPOC.

Así, en un aspecto se proporciona el uso de un compuesto de la
20 invención para el tratamiento de EPOC y/o asma, en particular EPOC o asma severo, mediante la inhalación es decir, la administración tópica al pulmón. Ventajosamente, la administración al pulmón permite que se observen los efectos benéficos de los compuestos mientras se disminuyen los efectos

secundarios, para los pacientes.

En una modalidad el compuesto es adecuado para sensibilizar a los pacientes al tratamiento con corticoesteroides.

El compuesto en la presente también puede ser útil para el
5 tratamiento de la artritis reumatoide.

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la descripción opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

10 Los diluyentes y portadores pueden incluir aquellos adecuados para la administración parenteral, oral, tópica, a través de la mucosa y rectal y pueden ser diferentes dependiendo de la vía de administración.

En una modalidad las composiciones pueden prepararse, por ejemplo, para administración parenteral, subcutánea, intramuscular,
15 intravenosa, intra-articular o peri-articulares, en particular en forma de soluciones líquidas o suspensiones; para administración oral, en particular en forma de tabletas o cápsulas; para administración tópica, por ejemplo, administración pulmonar o intranasal, en particular en forma de polvos, gotas nasales o aerosoles y administración transdérmica; para administración a
20 través de la mucosa, por ejemplo, administración bucal, sublingual o vaginal, y para administración rectal, por ejemplo, en forma de un supositorio.

Las composiciones pueden ser convenientemente administradas en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los

métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985).

Las formulaciones para la administración parenteral pueden
5 contener como excipientes agua estéril o solución salina, alquilen glicoles tales como propilenglicol, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y similares.

Las formulaciones para la administración nasal pueden ser sólidas y pueden contener excipientes, por ejemplo, lactosa o dextrano, o
10 pueden ser soluciones acuosas u oleosas para su uso en forma de gotas nasales o aspersión medida. Para la administración bucal los excipientes típicos incluyen azúcares, estearato de calcio, estearato de magnesio, almidón pregelatinizado, y similares.

Las composiciones adecuadas para la administración oral
15 pueden comprender uno o más portadores y/o excipientes fisiológicamente compatibles y pueden estar en forma sólida o líquida. Las tabletas y cápsulas se pueden preparar con agentes aglutinantes, por ejemplo, jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinilpirrolidona; llenadores tales como lactosa, sacarosa, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina;
20 lubricantes, tales como estearato de magnesio, talco, polietilenglicol, o sílice, y agentes tensoactivos, tales como lauril sulfato de sodio. Las composiciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo, jarabe de sorbitol, metilcelulosa, jarabe de azúcar,

gelatina, carboximetilcelulosa, o grasas comestibles; agentes emulsionantes tales como lecitina o acacia; aceites vegetales tales como aceite de almendras, aceite de coco, aceite de hígado de bacalao o aceite de cacahuete; conservadores tales como hidroxianisol butilado (BHA) e
5 hidroxitolueno butilado (BHT). Las composiciones líquidas pueden encapsularse en, por ejemplo, gelatina para proporcionar una forma de dosificación unitaria.

Las formas de dosificación orales sólidas incluyen tabletas, cápsulas de cubierta dura de dos piezas y cápsulas de gelatina elástica
10 blanda (SEG).

Una formulación de cubierta seca típicamente comprende una concentración de alrededor de 40% a 60% de gelatina, una concentración de alrededor de 20% a 30% de plastificante (tal como glicerina, sorbitol o propilenglicol) y una concentración de alrededor de 30% a 40% de agua.
15 Otros materiales tales como conservadores, colorantes, opacificantes y saborizantes también pueden estar presentes. El material de relleno líquido comprende un fármaco sólido que se disolvió, solubilizó o dispersó (con agentes de suspensión tales como cera de abejas, aceite de ricino hidrogenado o polietilenglicol 4000) o un fármaco líquido en los vehículos o
20 combinaciones de vehículos, tales como aceite mineral, aceites vegetales, triglicéridos, glicoles, polioles y agentes activos de superficie.

Convenientemente, el compuesto de fórmula (I) se administra por vía tópica en el pulmón. Por lo tanto, en una modalidad se proporciona

una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la descripción opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables. La administración tópica en el pulmón se puede lograr mediante el uso de una formulación en aerosol. Las

5 formulaciones en aerosol comprenden típicamente el ingrediente activo suspendido o disuelto en un propulsor adecuado en aerosol, tal como clorofluorocarbono (CFC) o hidrofluorocarbono (HFC). Los propulsores de CFC adecuados incluyen tricloromonofluorometano (propulsor 11), diclorotetrafluorometano (propulsor 114), y diclorodifluorometano (propulsor

10 12). Los propulsores de HFC adecuados incluyen tetrafluoroetano (HFC-134a) y heptafluoropropano (HFC-227). El propulsor normalmente comprende 40% a 99.5% por ejemplo, 40% a 90% en peso de la composición total para inhalación. La formulación puede comprender excipientes incluyendo co-solventes (por ejemplo, etanol) y agentes tensoactivos (por ejemplo, lecitina,

15 trioleato de sorbitán y similares). Las formulaciones en aerosol son envasadas en botes y una dosis adecuada se suministra por medio de una válvula de medición (por ejemplo, que se suministra por Bepak, Valois o 3M).

La administración tópica en el pulmón también se puede lograr mediante el uso de una formulación no presurizada tal como una solución

20 acuosa o suspensión. Esto puede ser administrado por medio de un nebulizador. La administración tópica en el pulmón también se puede lograr mediante el uso de una formulación en polvo seco. Una formulación en polvo seco tendrá el compuesto de la descripción en forma finamente dividida, por lo

general con un diámetro de masa media (MMAD, por sus siglas en inglés) de 1-10 μm . La formulación tendrá típicamente un diluyente tópicamente aceptable tal como lactosa, por lo general de un tamaño de partícula grande, por ejemplo, un diámetro de masa media (MMAD) de 100 μm o más.

- 5 Sistemas de suministro de polvo seco ejemplares incluyen SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS, SKYEHALER, ACCUHALER y CLICKHALER.

En una modalidad un compuesto de la presente invención se proporciona como una formulación en polvo seco micronizado, por ejemplo,
10 que comprende lactosa de un grado adecuado, que se llena en un dispositivo como DISKUS.

El compuesto de acuerdo con la descripción está destinado a tener una actividad terapéutica. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la descripción para su uso como un
15 medicamento.

El compuesto de acuerdo con la descripción puede también ser útil en el tratamiento de trastornos respiratorios incluyendo EPOC (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma infantil, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis,
20 especialmente asma, bronquitis crónica y EPOC.

El compuesto de la descripción también puede volver a sensibilizar la condición del paciente al tratamiento con un corticoesteroide, cuando previamente la condición del paciente se ha vuelto resistente a los

mismos.

En una modalidad de la invención una dosis del compuesto presente se emplea la cual es igual a la adecuada para utilizarse como una monoterapia pero se administra en combinación con un corticoesteroide.

5 En una modalidad una dosis del compuesto de fórmula (I) que sería subterapéutica a medida que se usa un agente único, en combinación con un corticoesteroide, restaurando así la capacidad de respuesta del paciente al último, en casos en donde el paciente había sido resistente al mismo.

10 Adicionalmente, el compuesto de la descripción puede exhibir actividad anti-viral y resultar útil en el tratamiento de exacerbaciones virales de condiciones inflamatorias como asma y/o EPOC.

 El compuesto de la presente descripción también puede ser útil en la profilaxis, el tratamiento o la mejora del virus de gripe, rinovirus y/o virus
15 sincitial respiratorio.

 También se espera que el compuesto de fórmula (I), de acuerdo con la descripción sea útil en el tratamiento de ciertas condiciones que pueden tratarse con la terapia tópica o local, incluyendo conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis
20 ulcerativa, articulaciones inflamadas secundarias a la artritis reumatoide u osteoartritis.

 En una modalidad el compuesto de fórmula (I) se considera útil en el tratamiento de hepatitis C y/o VIH, cuando se administra por la vía

apropiada. Las vías apropiadas de administración pueden incluir oral, inyección intravenosa o infusión.

En una modalidad un compuesto de fórmula (I) para el tratamiento de hepatitis C se suministra a la sangre antes de entrar al hígado.

5 También se espera que el compuesto de la descripción sea útil en el tratamiento de otras condiciones incluyendo artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno.

10 En una modalidad el compuesto actualmente descrito y formulaciones farmacéuticas que comprenden el mismo son útiles en el tratamiento o prevención de cáncer, en particular cáncer de pulmón, especialmente por administración tópica al pulmón.

De este modo, en un aspecto adicional, la presente invención
15 proporciona un compuesto como se describió en la presente para su uso en el tratamiento de una o más de las condiciones antes mencionadas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto como se describió en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las condiciones antes
20 mencionadas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método de tratamiento de las condiciones arriba mencionadas, que comprende administrar a un sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de

la descripción o una composición farmacéutica del mismo.

Los compuestos descritos en la presente también se pueden utilizar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las enfermedades antes mencionadas.

- 5 La palabra "tratamiento" pretende abarcar la profilaxis como también el tratamiento terapéutico.

Un compuesto de la descripción también se puede administrar en combinación con uno o más ingredientes activos, por ejemplo, ingredientes activos adecuados para el tratamiento de las condiciones antes mencionadas.

- 10 Por ejemplo, las posibles combinaciones para el tratamiento de trastornos respiratorios incluyen combinaciones con esteroides (por ejemplo, budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, furoato de mometasona, furoato de fluticasona), beta agonistas (por ejemplo, terbutalina, salbutamol, salmeterol, formoterol, indacaterol) y/o xantinas (por
15 ejemplo, teofilina) antagonistas muscarínicos (por ejemplo ipratropio) y/o inhibidor p38 MAP cinasa.

En una modalidad un compuesto de la descripción se administra en combinación con un agente antiviral, por ejemplo aciclovir, tamiflu, relenza o interferón.

- 20 En una modalidad, la combinación de ingredientes activos se co-formula.

En una modalidad un compuesto de la presente descripción se co-formula con un corticoesteroide como una formulación para la inhalación,

por ejemplo, para utilizarse en la terapia de mantenimiento de EPOC o cáncer de pulmón incluyendo prevención del último.

En una modalidad, la combinación de los ingredientes activos simplemente se co-administra.

- 5 En una modalidad el compuesto de la descripción se administra por inhalación y un corticoesteroide se administra oralmente o por inhalación ya sea en combinación o por separado.

Sección experimental

- 10 Las abreviaturas utilizadas en la presente se definen a continuación (Cuadro 1). Cualesquiera abreviaturas no definidas pretenden transferir su significado generalmente aceptado.

CUADRO 1

Abreviaturas

5	ac	acuoso
	Ac	acetilo
	ATP	adenosin-5'-trifosfato
	BALF	fluido de lavado bronquioalveolar
	br	amplio
	BSA	albúmina sérica bovina
	EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
	d	doblete
	DCM	diclorometano
	DMAP	4-dimetilaminopiridina

	DMSO	dimetil sulfóxido	
	EDC.HCl	clorhidrato de	1-etil-3-(3-
	(ES+)	dimetilaminopropil)carbodiimida	
	Et	ionización de electroaspersión, modo positivo	
	EtOAc	etilo	
5	EtOH	acetato de etilo	
	FACS	etanol	
	FCS	clasificación celular activada con fluorescencia	
	FP	suero fetal de ternera	
	G	propionato de fluticasona	
	HPLC-MS	gramo(s)	
	Hr	espectrometría de masa por cromatografía líquida de alto rendimiento	
	HRP	hora(s)	
10	HRV	peroxidasa de rábano	
	i-n	rinovirus de humano	
	i-t	intra-nasal	
	IL-8	intra-traqueal	
	μL	Interleucina 8	
	LPS	microlitro(s)	
	μM	lipopolisacárido	
	M	micromolar	
	(M+H) ⁺	molar	
15	MCP-1	ion molecular protonado	
	Me	proteína quimioatrayente de monocito	
	MeOH	metilo	
	Mg	metanol	
	MHz	miligramo(s)	
	min	megahertz	
	mL	minuto(s)	
	mM	mililitro(s)	
	mmol	milimolar	
20	MTT	milimol(s)	
	m/z	bromuro de	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-
	Ng	difeniltetrazolio	
	nM	relación masa-carga	
	Nm	nanogramo	
	RMN	nanomolar	
		nanómetro	
		resonancia magnética nuclear (espectroscopía)	

	OVA	ovalbúmina
	PBS	solución regulada de fosfato
	Ph	fenilo
	PIP2	fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
	PIP3	fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
	PMA	forbol miristato acetato
	po	por administración oral
5	PPh ₃	trifenilfosfina
	q	cuarteto
	quin	quinteto
	R ^T	tiempo de retención
	TA	temperatura ambiente
	RP HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa
	RSV	virus sincitial respiratorio
	s	singlete
10	SDS	dodecil sulfato de sodio
	SEM	error estándar de la media
	t	triplete
	TMB	3,3',5,5'-tetrametilbenzidina
	TNF _α	factor alfa de necrosis tumoral
	TR-FRET	transferencia de energía por resonancia de fluorescencia de resolución temporal
	vol	Volumen
15		

Procedimientos generales

Todas las materias de partida y solventes se obtuvieron de fuentes comerciales o se prepararon de acuerdo con la cita bibliográfica. A menos que se establezca de otra forma todas las reacciones fueron agitadas.

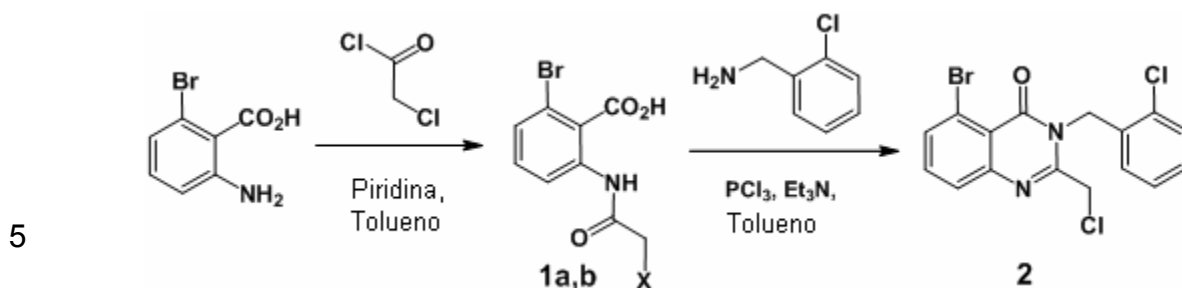
20 Las soluciones orgánicas se secaron normalmente sobre sulfato de magnesio anhidro.

Se realizó HPLC-MS en sistemas Agilent HP1200 utilizando columnas Agilent Extend C18, (1.8 μm, 4.6 x 30 mm) a 40°C y una velocidad

de flujo de 2.5-4.5 mL min⁻¹, eluyendo con una gradiente de H₂O-MeCN que contiene 0.1% v/v de ácido fórmico durante 4 min. Información de gradiente: 0-3.00 min, cambió de 95% de H₂O-5% de MeCN a 5% de H₂O-95% de MeCN; 3.00-3.01 min, se mantuvo a 5% de H₂O-95% de MeCN, la velocidad de flujo incrementó a 4.5 mL min⁻¹; 3.01-3.50 min, se mantuvo a 5% de H₂O-95% de MeCN; 3.50-3.60 min, se regresó a 95% de H₂O-5% de MeCN; la velocidad de flujo se redujo a 3.50 mL min⁻¹; 3.60-3.90 min, se mantuvo a 95% de H₂O-5% de MeCN; 3.90-4.00 min, se mantuvo a 95% de H₂O-5% de MeCN, la velocidad de flujo se redujo a 2.5 mL min⁻¹. La detección de UV se realizó a 254 nm utilizando un detector de longitud de onda variable Agilent G1314B.

Los espectros de masa se obtuvieron utilizando ionización de electroaspersión (ES) sobre la escala m/z 60 a 2000 a una velocidad de muestreo de 1.6 seg/ciclo utilizando Agilent G1956B, sobre m/z 150 a 850 a una velocidad de muestreo de 2 Hz utilizando Waters ZMD o sobre m/z 100 a 1000 a una velocidad de muestreo de 2 Hz utilizando un sistema Shimadzu 2010 LC-MS. Los espectros ¹H RMN se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz utilizando solvente no deuterado residual como referencia.

5-Bromo-3-(2-clorobencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona.

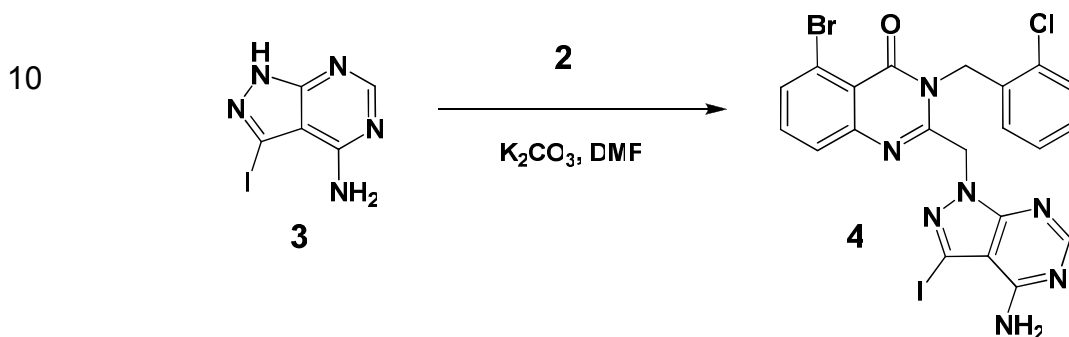


A una solución agitada de ácido 2-amino-6-bromo-benzoico (3.06 g, 14.2 mmoles) en tolueno (75 mL) enfriado a 0 °C en un baño con hielo se agregó piridina (0.60 mL, 7.10 mmoles) seguido por una solución de cloruro de cloroacetilo (2.26 mL, 28.4 mmoles) en tolueno (75 mL) gota a gota durante 1 hr. La mezcla de reacción se dejó entibiar a TA y se calentó a 115 °C durante 3 hr y luego se dejó enfriar a TA. El volumen del solvente se redujo por la mitad por evaporación *in vacuo*. Después de dejar reposar durante la noche, el producto se precipitó y se recolectó por filtración para producir ácido 2-bromo-6-(2-cloroacetamido)benzoico (1a, X = Cl) (1.44 g) como un sólido blanco: m/z 290/292 (M+H)⁺ (ES⁺). El filtrado se concentró *in vacuo* y el residuo se trituró con etanol/heptano para producir ácido 2-bromo-6-(2-hidroxiacetamido) benzoico (1b X = OH) (1.02 g, rendimiento combinado, 59%): m/z 274/276 (M+H)⁺ (ES⁺). Tanto 1a como 1b se pueden utilizar sin purificación adicional en el siguiente paso.

A una mezcla agitada del compuesto (1a) (7.50 g, 27.4 mmoles), 2-clorobencilamina (5.00 mL, 41.05 mmoles) y trietilamina (5.70 mL, 41.1 mmoles) en tolueno (250 mL) se agregó una solución de tricloruro de fósforo

(2.60 mL, 30.1 mmoles) en tolueno (250 mL) gota a gota durante 1 hr. La mezcla de reacción se calentó a 110°C durante 24 hr, con lo cual la solución caliente se decantó y concentró *in vacuo*. El residuo se trituró con propan-2-ol (50 mL) para producir el compuesto del título (2) (6.41 g, 59%) como un sólido amarillo: R^t 2.67 min; m/z 397/399 (M+H)⁺ (ES⁺).

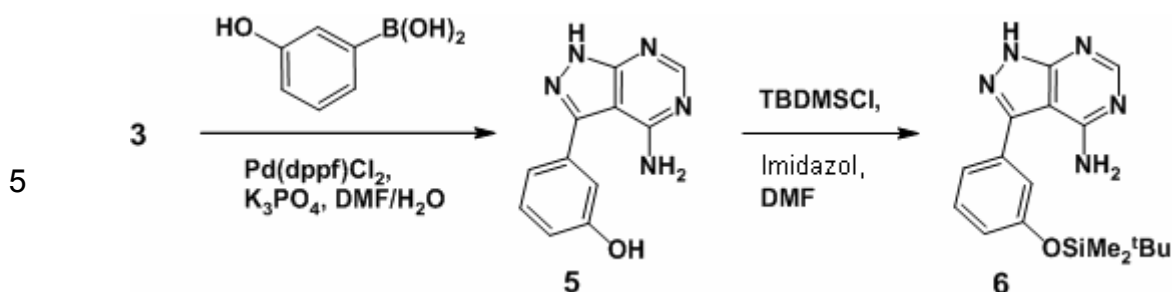
2-((4-Amino-3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-5-bromo-3-(2-clorobencil)quinazolin-4(3H)-ona.



A una mezcla agitada de 5-bromo-3-(2-clorobencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona, (2), (13.6 g, 30.7 mmoles) y 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (3) (8.09 g, 30.7 mmoles) en DMF (300 mL se agregó carbonato de potasio (6.36 g, 46.0 mmoles) y la reacción se mantuvo a TA en la oscuridad durante 24 hr. La mezcla se vertió en agua (4.0 L) y la suspensión resultante se agitó a TA durante 1 hr. El precipitado se aisló por filtración y se secó *in vacuo* para producir el compuesto del título, (4), como un sólido incoloro (18.0 g, 94%); R^t 2.17 min; m/z 622/624 [M+H]⁺ (ES⁺).

3-(3-(*tert*-Butildimetilsililoxi)fenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-

amina

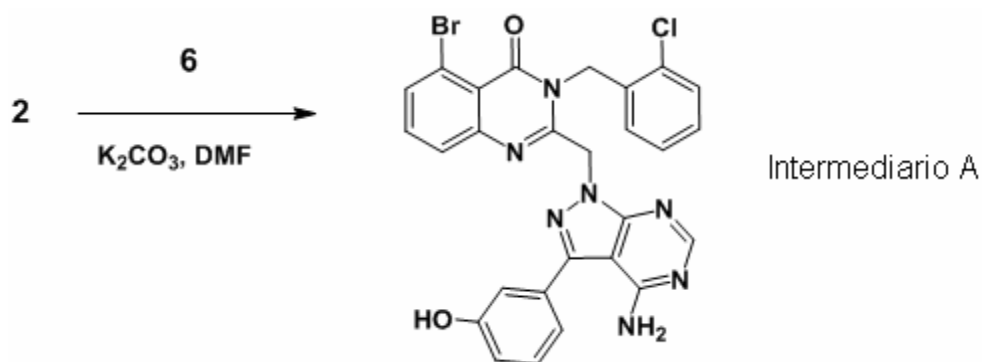


A una suspensión agitada de 3-yodo-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-amina (**3**) (8.22 g, 31.5 mmoles), ácido 3-fenol borónico (13.0 g, 94.5 mmoles) y fosfato de potasio (10.0 g, 47.3 mmoles) en DMF desgasificado/agua (3:2, 140 mL) se agregó dicloruro de [dppf] paladio (II) (13.0 g, 15.7 mmoles). La mezcla de reacción se enjuagó con nitrógeno, se calentó a 120°C durante 2 hr y luego se dejó enfriar a TA. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (500 mL) y ácido clorhídrico (2 M, 500 mL) y la suspensión resultante se filtró. El filtrado se extrajo con ácido clorhídrico (2 M, 2 x 500 mL). Los extractos ac combinados se basificaron con solución ac saturada de carbonato de sodio a pH 10. El precipitado formado se filtró y el filtrado se extrajo con EtOAc (3 x 1 L). Los extractos orgánicos combinados se secaron, se filtraron y el solvente se removió *in vacuo* para producir un sólido gris. Todos los materiales sólidos generados durante el procedimiento de elaboración se combinaron y trituraron con DCM para producir 3-(4-amino-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-3-il)fenol (**5**) (6.04 g, 84%) como un sólido gris: m/z 228 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ (ES^+).

A una solución agitada del fenol (5) (4.69 g, 20.66 mmoles) e imidazol (2.10 g, 30.99 mmoles) en DMF seco (100 mL) se agregó TBDMSCI (4.70 g, 30.99 mmoles). Después de 16 hr, se agregaron alícuotas adicionales de imidazol (2.10 g, 30.99 mmoles) y TBDMSCI (4.70 g, 30.99 mmoles) y la mezcla se agitó durante 48 hr. La mezcla de reacción se diluyó con agua (120 mL) y se extrajo con DCM (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 200 mL), se secaron, se filtraron y el volumen se redujo a aproximadamente 100 mL por evaporación *in vacuo*. La suspensión resultante se filtró y el sólido se lavó con heptano (50 mL) para producir el compuesto del título (6) (6.05 g, 85%) como un sólido blanquecino: m/z 343 (M+H)⁺ (ES⁺).

Intermediario A: 2-((4-Amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-5-bromo-3-(2-clorobencil)quinazolin-4(3H)-ona.

15



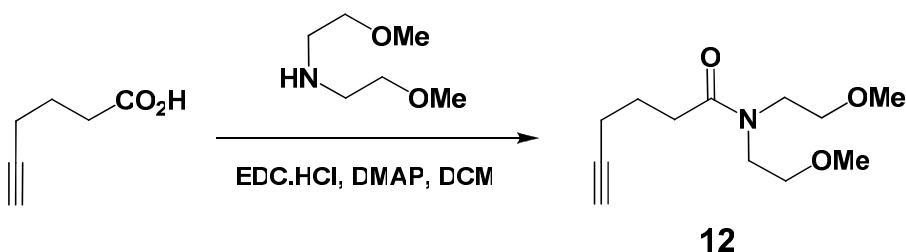
20

A una mezcla agitada de 5-bromo-3-(2-clorobencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona (2) (100 mg, 0.25 mmoles) y carbonato de potasio (42 mg, 0.30 mmoles) en DMF (2.5 mL) se agregó una solución de 3-

(3-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenil)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-amina (6) (94 mg, 0.28 mmoles) en DMF (2.5mL) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 18 hr. Carbonato de potasio (3 x 35 mg, 0.75 mmoles) se agregó en tres porciones durante 30 hr. después de lo cual el solvente se removió *in vacuo* y el material crudo se purificó por cromatografía de columna instantánea, eluyendo con 4.5% de metanol en DCM, para producir el compuesto del título, Intermediario A, (94 mg, 64%) como un sólido blanquecino: R^t 2.01 min; m/z 588/590 (M+H)⁺, (ES⁺).

10

Intermediario B: *N,N*-bis(2-Metoxietil)hex-5-inamida.



15

A una solución de ácido hex-5-inoico (7.11 g, 63.4 mmoles), EDC.HCl (14.0 g, 72.9 mmoles) y DMAP (387 mg, 3.17 mmoles) en DCM (600 mL) a 0°C se agregó *bis*(2-metoxietil)amina (9.3 mL, 63 mmoles). La mezcla resultante se entibió a TA durante 20 hr y luego se lavó con ácido clorhídrico (1 M, 2 x 500 mL) y agua (500 mL). La capa orgánica se secó y se evaporó *in vacuo* para producir el compuesto del título, Intermediario B, como un aceite amarillo (16 g, 97%):

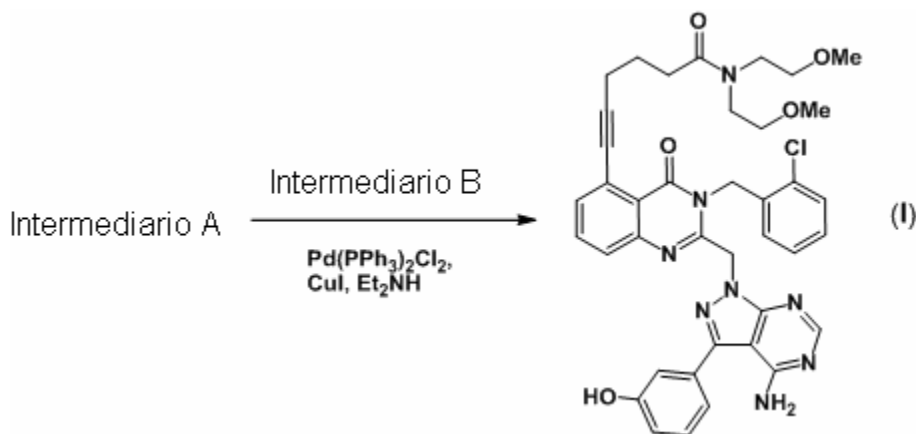
20

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.88 (3H, m), 2.26 (2H, m), 2.49 (2H, m), 3.32 (6H, s), 3.51 (4H, m), 3.55 (4H, m)

6-(2-((4-Amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-inamida: Compuesto de la fórmula (I).

5

10



Una mezcla del Intermediario B (9.11 g, 34.9 mmoles), dicloruro de *bis*-trifenilfosfina paladio(II) (0.98 g, 1.4 mmoles), Intermediario A (8.3 g, 14 mmoles), y yoduro de cobre(I) (0.27 g, 1.4 mmoles), en dietilamina (400 mL, 3.8 moles) se desgasificó con nitrógeno y luego se agitó a 60°C durante 4 hr luego se enfrió a TA durante 72 hr adicionales. La mezcla se evaporó *in vacuo* y el residuo se dividió entre acetato de amonio ac (500 mL) y EtOAc (500 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera (2 x 500 mL) y luego se secó y evaporó *in vacuo*. El residuo se purificó por cromatografía en columna instantánea, (SiO₂, 120 g, MeOH en DCM, 0-5%, elución de gradiente) para producir el compuesto del título de fórmula (I), como un sólido blanquecino (6.9 g, 66%): R^t 1.92 min; m/z 735/737 (M+H)⁺ (ES⁺) (Método D);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.70 (2H, quin), 2.46 (2H, t),

2.55 (2H, t), 3.12 (3H, s), 3.19 (3H, s), 3.26 (2H, m traslapante), 3.31 (4H, m, parcialmente oscurecido por el pico de HOD), 3.35 (2H, q), 5.30 (2H, s), 5.76 (2H, s), 6.18 (1H, dd), 6.80 (1H, dt), 6.85 (1H ddd), 6.92-6.94 (2H, m traslapante), 7.05 (1H, td), 7.13 (1H, dd), 7.31 (1H, t), 7.61 (1H, dd), 7.68 (1H, dd), 7.81 (1H, dd), 8.18 (1H, br s), 9.65 (1H, br s).

La complejidad y las consecuencias adicionales para el desarrollo del fármaco que resulta del atropisomerismo son análogas a aquellas que surgen de otras fuentes de isomerismo molecular tal como la presencia de un centro estereogénico. Esta propiedad hace a dichas moléculas ambas quirales, y a menos que se resuelva, una mezcla racémica; cuyos componentes podrían poseer diferentes perfiles farmacológicos y toxicológicos. Esta característica es propensa a incrementar significativamente los costos de desarrollo corriente abajo para dichas moléculas y la ausencia de atropisomerismo en el compuesto de fórmula (I) que se describe en la presente por lo tanto es una propiedad altamente deseable y ventajosa.

Pruebas biológicas: Métodos experimentales

Ensayo de inhibición enzimática

Las PI3 cinasas catalizan la fosforilación de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) a fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP₃) en presencia de ATP y iones de Mg²⁺. El producto PIP₃ se puede detectar por desplazamiento de biotina-PIP₃ de complejos de transferencia de energía que consisten en

anticuerpo monoclonal anti-GST marcado con europio, un dominio de homología con Pleckstrina etiquetada con GST (PH), PIP3 biotinilado y estreptavidina-aloficocianina (APC) por la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia de resolución temporal (TR-FRET) (prueba 5 enzimática HTRF®PI3K, Millipore). La excitación (330 nm) del europio en el complejo da como resultado una transferencia de energía a la APC y una emisión fluorescente a 665 nm aunque el europio mismo emite en su característica 620 nm. El producto PIP3 formado por actividad de PI3K desplaza la biotina-PIP3 del complejo y da como resultado una pérdida de 10 transferencia de energía (señal decreciente).

Se agregó el compuesto que se va a probar, en las concentraciones finales deseadas, a una mezcla de substrato de PIP2 y enzimas α , δ o γ de PI3 cinasa recombinante (Millipore), y la mezcla se incubó durante 2 hr a TA. Después de este periodo de incubación, se agregó 15 ATP (20 μ M) a la mezcla de enzima/compuesto/substrato de PIP2 y la mezcla resultante se incubó durante 30 min a TA. Una solución de detención que contiene PIP3 biotinilado y la mezcla de detección que contiene el dominio de homología con pleckstrina (PH) de GRP1 etiquetada con GST y los fluoróforos entonces se agregan y la mezcla se incubó a TA durante 15-18 hr, 20 antes de la detección en un lector de microplaca de fluorescencia (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific).

Los resultados se calcularon de acuerdo con la fórmula: señal de APC (emisión a 665 nm)/señal de europio:(emisión a 620 nm) x 10^4 . El

porcentaje de inhibición de cada reacción se calculó con relación al control tratado con DMSO, y después se calculó el 50% de concentración inhibidora (valor CI_{50}) a partir de la curva de concentración-respuesta.

5 Prueba basada en células PI3K δ

Como un medio para evaluar la activación de PI3K δ en respuesta a estímulos, el estado de fosforilación de la proteína, Akt, un producto corriente abajo de PI3K δ , se determinó la señalización.

Las células monocíticas de humano (células U937), se
10 diferenciaron de las células tipo macrófago por la incubación con PMA (100 ng/mL) durante 48 a 72 hr. Las células entonces se pre-incubaron con el compuesto de prueba o vehículo durante 2 hr y luego se estimularon brevemente por medio de exposición a H_2O_2 (10 mM; 5-7 min) y la reacción se detuvo al reemplazar el medio con solución de formaldehído al 4%. La
15 actividad endógena de peróxido y formaldehído se inactivó al incubar con regulador de pH de extinción (azida de sodio al 0.1%, H_2O_2 al 1% en PBS con Triton X-100 al 0.1%) durante 20 min. Las células se lavaron con regulador de pH (PBS que contiene Triton X-100 al 0.1%) y se incubaron con solución de bloqueo (BSA al 1% en PBS) durante 1 hr y entonces se volvieron a lavar con
20 regulador de pH y se incubaron durante la noche con anticuerpo anti-pAkt o anticuerpo anti-pan-Akt (ambos de Cell Signaling Technology). Después de lavar con regulador de pH (PBS que contiene Triton X-100 al 0.1%), las células se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con HRP

(Dako) y se determinó la señal resultante colorimétricamente (OD: 450 nm con una longitud de onda de referencia de 655 nm) utilizando el substrato TMB (paquete del reactivo del substrato suministrado por R&D Systems, Inc.).

5 Esta reacción se detuvo por la adición de 100 μ L de solución de 1N H_2SO_4 . Entonces las células se lavaron con regulador de pH (PBS que contiene Triton X-100 al 0.1%) y 100 μ L de solución de violeta cristal al 5% se aplicaron durante 30 min. Después de lavar con regulador de pH (PBS que contiene Triton X-100 al 0.1%) 100 μ L de SDS al 1% se agregaron a cada
10 pozo y las placas se agitaron ligeramente durante 1 hr antes de medir la absorbancia a 595 nm (Varioskan® Flash, Thermo-Fisher Scientific). Las lecturas medidas de $OD_{450-655}$ se corrigieron para el número de células al dividir $OD_{450-655}$ entre las lecturas de OD_{595} . La relación de la señal de pAkt a la señal total de Akt se utilizó para cuantificar el grado de activación de PI3K
15 δ. El porcentaje de inhibición para cada pozo se calculó con respecto a un control estándar de 10 μ g/mL (LY294002) ajustado a 100% de inhibición *versus* controles de sólo H_2O_2 como inhibición al 0%. Los valores de CI_{50} se calcularon de las curvas de concentración-respuesta generadas por las diluciones en serie de los compuestos de prueba.

20

Prueba basada en células PPI3K y

Como un medio para evaluar la activación de PI3K y en respuesta a los estímulos, el estado de fosforilación de la proteína, Akt, un

producto corriente abajo de PI3K y, se determinó la señalización siguiendo la estimulación con MCP-1.

Las células monocíticas de humano (células THP1) se pre-incubaron en un medio FCS RPMI-1640 al 1% durante 1 hr. Entonces las
5 células se trataron con el compuesto de prueba o vehículo durante 1 hr y se estimularon brevemente por exposición a MCP-1 (50 nM, 5-7 min; sistemas R&D, MN, USA). La reacción se detuvo al reemplazar el medio con solución de formaldehído al 4% seguido por permeabilidad utilizando IntraPrep™ (Beckman Coulter, France) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las
10 células se lavaron con regulador de pH de lavado (PBS que contiene BSA al 0.1%) y luego se incubaron con anti-fosfo-Akt (#9271; Cell Signaling, Danvers, MA, USA) durante 15 min a TA. Después de lavar con regulador de pH de lavado, las células se incubaron con un anticuerpo de cabra anti-ratón conjugado con azul pacífico (Life Technologies Corp., Carlsbad, CA, USA) y
15 se determinó el nivel de fluorescencia utilizando un citómetro de flujo ATTUNE (Life Technologies Corp.). Del histograma, se calculó el porcentaje mínimo de células positivas en cada muestra comparada con el control de la línea basal y se utilizó para cuantificar el grado de activación de PI3K y. El porcentaje de inhibición para cada pozo se calculó con respecto a un control estándar de 10
20 µg/mL (LY294002) ajustado a 100% de inhibición *versus* controles de sólo MCP1 como inhibición al 0%. El valor de CI_{50} se calculó de las curvas de concentración-respuesta generadas por las diluciones en serie de los compuestos de prueba.

Liberación de IL-8 inducida por rinovirus

Se obtuvo RV16 de rinovirus humano a partir de American Type Culture Collection (Manassas, VA) Los materiales virales fueron generados mediante la infección de células HeLa con HRV hasta que el 80% de las
5 células fueron citopáticas. Las células BEAS2B se infectaron con HRV en MOI de 5 y se incubaron durante 2 hr a 33°C con agitación suave para promover la absorción. Las células se lavaron entonces con PBS, se agregó medio fresco y las células fueron incubadas durante 72 horas más. El sobrenadante se recolectó para prueba de las concentraciones de IL-8
10 utilizando el equipo de desarrollo Duoset ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN).

Carga *in vitro* del virus RSV en células epiteliales bronquiales primarias

15 Las NHBEC (células epiteliales bronquiales de humano normales) que se hicieron crecer en placas de 96 pozos se infectaron con RSV A2 (Cepa A2, HPA, Salisbury, UK; en MOI de 0.001) en el medio LHC8:RPMI-1640 (50:50) que contiene 15 mM de cloruro de magnesio y se incubaron durante 1 hr a 37°C para absorción. Las células se lavaron
20 entonces con PBS, se agregó medio fresco y las células fueron incubadas durante 4 días. Cuando era apropiado, las células fueron pre-incubadas con el compuesto de prueba o DMSO durante 2 hr, y luego agregadas otra vez después del lavado del virus.

Las células se fijaron con formaldehído al 4% en solución de PBS durante 20 min, se lavaron con regulador de pH de lavado (PBS que incluye BSA al 0.5% y Tween-20 al 0.05%) y se incubaron con solución de bloqueo (leche condensada al 5% en PBS) durante 1 hr. Las células entonces

5 se lavaron con regulador de pH de lavado y se incubaron durante 1 hr a TA con anticuerpo de proteína de F-fusión anti- RSV (2F7) (monoclonal de ratón; lote 798760, Cat. No. ab43812, Abcam). Después del lavado, las células se incubaron con un anticuerpo secundario HRP-conjugado (lote 00053170, Cat. No. P0447, Dako) y luego se agregó el sustrato TMB (paquete del reactivo

10 del sustrato lote 269472, Cat. No. DY999, R&D Systems, Inc.). Esta reacción se detuvo por la adición de 2N H₂SO₄ (50 µL) y se determinó la señal resultante colorimétricamente (OD: 450 nm con una longitud de onda de referencia de 655 nm) en un lector de microplacas (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific). Entonces las células se lavaron y se aplicó una

15 solución de violeta cristal al 2.5% (lote 8656, Cat. No. PL7000, Pro-Lab Diagnostics) durante 30 min. Después del lavado con regulador de pH de lavado, 100 µL de SDS al 1% se lavaron en cada pozo y las placas se agitaron ligeramente en el agitador durante 1 hr antes de la lectura de la absorbancia a 595 nm. Las lecturas medidas de OD₄₅₀₋₆₅₅ se corrigieron para

20 el número de células al dividir OD₄₅₀₋₆₅₅ entre las lecturas de OD₅₉₅. El porcentaje de inhibición para cada pozo se calculó y el valor de CI₅₀ se calculó de la curva de concentración-respuesta generada por las diluciones en serie del compuesto.

Prueba MTT

Las células U937 diferenciadas con PMA fueron pre-incubadas con el compuesto de prueba durante 4 hr en FCS al 5% o FCS al 10% durante 24 hrs. El sobrenadante se reemplazó con 200 μ L del medio nuevo y 10 μ L de solución madre de MTT (5 mg/mL) agregada a cada pozo. Después de 1hr de incubación, se removió el medio, se agregaron 200 μ L de DMSO a cada pozo y las placas se agitaron ligeramente durante 1 hr antes de la lectura de la absorbancia a 550 nm. La pérdida de porcentaje de la viabilidad celular fue calculada para cada pozo con relación al vehículo (DMSO al 0.5%)-tratamiento.

Detección *in vivo* Actividad farmacodinámica y anti-inflamatoria

Acumulación de neutrófilo y eosinófilo nasal inducida con ovalbúmina en ratones

Se inmunizaron ratones BALB/c (6-8 semanas de edad) con OVA (40 μ g/kg i.p.) en el día 1 y 5. Para obtener respuestas inflamatorias locales en la nariz, los ratones fueron desafiados de forma repetida intranasalmente (10 μ L por nostril) en los días 12–19 con OVA (3% OVA en solución salina). En el día 19 a los ratones que no estuvieron en ayunas se les dosificó intranasalmente (10 μ L/nostril) con vehículo o compuesto de prueba a T = -2 hr con respecto al inicio del desafío final de OVA. A T = 0, cada animal recibió un desafío de OVA intranasal final (3%). Después de 8 hr

adicionales, cada animal se anestesió y se llevó a cabo el lavado nasal al instilar 1 mL de PBS en las narinas posteriores *por medio de* una cánula traqueal implantada en el rostro que se extiende a una posición que era de aproximadamente 1 mm antes de las narinas posteriores. Este procedimiento se repitió para dar un rendimiento de aproximadamente 2 mL de fluido de lavado. Se midieron los números totales de células en las muestras de fluido de lavado nasal utilizando un hemocitómetro. Se prepararon frotis de citospina de las muestras de fluido de lavado nasal por centrifugado a 1200 rpm durante 2 mins a TA y se tiñeron usando un sistema de tinción de DiffQuik (Dade Behring) para conteos diferenciales de células. Las células fueron contadas usando microscopía de inmersión en aceite. Los datos se expresan como número diferencial de las células por mL de fluido de lavado nasal, media $\pm$ S.E.M.

15 Acumulación de células inducida por poli-I:C en ratones

Los ratones A/J libres de patógenos específicos (machos, 5 semanas de edad) fueron administrados con poli (I:C)-LMW (poli-IC; 1 mg/mL, 40 μ L, en; InvivoGen, San Diego, CA, USA) intranasalmente dos veces al día durante 3 días bajo anestesia con isoflurano al 3%. Las sustancias de prueba se dieron intranasalmente (35 μ L de solución en DMSO/PBS al 50%) 2 hr antes de cada tratamiento con poli-I:C. Veinticuatro horas después del último desafío con poli-I:C, los animales fueron anestesiados, la traquea se canuló y se recolectó BALF. Se determinaron las concentraciones de macrófagos y

neutrófilos alveolares en BALF por el análisis de FACS (EPICS® ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) utilizando el anticuerpo MOMA2 antirratón (macrófago) o el anticuerpo 7/4 antirratón (neutrófilo).

5 Modelo de humo de cigarrillo

Ratones A/J (machos, 5 semanas de edad) fueron expuestos a humo de cigarrillo (4% de humo de cigarrillo, diluido con aire comprimido) durante 30 min/día durante 11 días utilizando el Sistema de Experimento con la Inhalación de Humo de Tabaco para animales pequeños (Modelo SIS-CS; Sibata Scientific Technology, Tokio, Japón). Se les proporcionaron sustancias de prueba por vía intranasal (35 µL de una solución en DMSO/PBS al 50%) y terapéuticamente dos veces al día durante 3 días después de la exposición final al humo de cigarrillo. Doce horas después de la última dosificación los animales fueron anestesiados, se les colocó una cánula en la tráquea y se recolectó el fluido de lavado broncoalveolar (BALF). Se determinaron los números de macrófagos y neutrófilos alveolares por el análisis de FACS (EPICS® ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) utilizando el anticuerpo MOMA2 antirratón (macrófago) o el anticuerpo 7/4 antirratón (neutrófilo).

20

Resumen de los resultados de detección *in vivo* e *in vitro*

El perfil *in vitro* del compuesto de fórmula (I) descrito en la presente, como se determina utilizando los métodos descritos anteriormente

se presentan a continuación (Cuadros 2 y 3). El compuesto de la presente invención demuestra una potente inhibición para las isoformas PI3 cinasa δ y γ , y sólo muestra una actividad inhibidora modesta contra la PI3 cinasa α en pruebas enzimáticas. Estos efectos se traducen en la potente inhibición de la fosforilación de Akt inducida por la estimulación de células con peróxido de hidrógeno o MCP-1, como también actividad inhibidora contra la liberación de IL-8 inducida por HRV y la expresión de la proteína F inducida por RSV en células epiteliales. No se detectaron efectos en la viabilidad celular, que resultan de la incubación con el compuesto de fórmula (I).

10

CUADRO 2

Efectos del compuesto de fórmula (I) en isoformas de PI3K; en peróxido de hidrógeno celular o fosforilación inducida por MCP-1 de Akt y en viabilidad celular

15

Inhibición de PI3 cinasa valor de CI_{50} en isoenzima establecida (nM)			Actividad celular valores de CI_{50} para inhibición de fosforilación de Akt inducida		Viabilidad celular Prueba MTT en células d-U937 ^a	
δ	γ	α	estímulos de H_2O_2 en células d-U937	estímulos de MCP-1 en células THP1	a 4 hr	a 24 hr
12	25	193	1.1	46 ^b	-ve	-ve

20

a) -ve indica un valor de <30% de inhibición; b) valor calculado de CI_{50} por regresión lineal.

CUADRO 3

Efectos del compuesto de fórmula (I) en liberación de IL-8 inducida por HRV y en expresión de la proteína F inducida por RSV

5	liberación de IL-8 inducida por HRV16 en células BEAS2B (% de inhibición)	Expresión de la proteína F de RSV en células epiteliales bronquiales: valor de CI_{50} (nM)
	78% (a 0.1 μ g/mL)	389

Se encontró que el tratamiento de ratones por vía intranasal con el compuesto descrito en la presente produce una inhibición dependiente de la dosis tanto en la acumulación eosinófila como neutrófila en lavado nasal después del desafío de alérgenos (Cuadro 4).

CUADRO 4

Los efectos del tratamiento con el compuesto de fórmula (I) en eosinofilia y neutrofilia de vías respiratorias inducida con OVA en ratones.

	Compuesto (I) (mg/mL)	Números de células en fluido de lavado nasal ($\times 10^5$/mL) e (% inhibición)	
		Eosinófilos	Neutrófilos
20	Vehículo	1.51 $\pm$ 0.22	0.34 $\pm$ 0.06
	0.05	1.13 $\pm$ 0.16 (25)	0.27 $\pm$ 0.04 (21)
	0.2	0.57 $\pm$ 0.14 (62)	0.15 $\pm$ 0.04 (56)
	N = 8 por grupo		

También se investigó el efecto del tratamiento con el compuesto de la presente invención en acumulación de macrófagos y neutrófilos en BALF después de la exposición de ratones a poli-I:C. Se encontró que el tratamiento con el compuesto de fórmula (I) produce una inhibición dependiente de la dosis de acumulación de macrófagos y neutrófilos inducida por poli-I:C en BALF (Cuadro 5).

CUADRO 5

Los efectos del tratamiento con el compuesto de fórmula (I) en acumulación celular inducida por poli-I:C en las vías respiratorias de ratones.

	Tratamiento y dosis del compuesto de fórmula (I) (mg/mL)	Números de células en BAL x10 ⁴ /mL (% de inhibición)	
		Macrófagos	Neutrófilos
15	Vehículo	5.0 ± 0.90	3.0 ± 0.55
	Vehículo + Poli I:C	16.7 ± 1.6	11.8 ± 0.3
	Poli I:C + (I) (0.002)	13.8 ± 0.48 (25)	10.8 ± 0.59 (11)
	Poli I:C + (I) (0.02)	12.2 ± 0.29 (38)	9.4 ± 0.26 (27)
	Poli I:C + (I) (0.2)	9.4 ± 0.75 (61)	7.9 ± 0.74 (44)
20	Poli I:C + (I) (2)	6.4 ± 1.2 (88)	5.6 ± 0.66 (70)

Los datos para los números de células se muestran como la media ± SEM, N=5

Se determinaron los efectos del tratamiento con el compuesto de

fórmula (I) en acumulación de macrófagos y neutrófilos en BALF después de la exposición a humo de cigarrillo (Cuadro 6). El modelo de humo de cigarrillo utilizado para este estudio se reporta para ser un sistema refractario de corticoesteroides, [To, Y. *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, 182:897-904; Medicherla, S. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2008, 324:921-9] y los datos revelan que la dexametasona (0.3-10 mg/kg, p.o.) fue, como se anticipó, inactiva. Los efectos del tratamiento con el compuesto de fórmula (I) en neutrófilos de BALF y en números de macrófagos alveolares activados demuestran que poseen actividad antiinflamatoria cuando se administran como monoterapia. Además, cuando el compuesto de la presente invención se co-administró con propionato de fluticasona, a una dosis que carece de cualquier efecto importante como monoterapia, se detectó una mejora marcada de actividad antiinflamatoria.

CUADRO 6

El efecto del tratamiento con el compuesto de fórmula (I) $\pm$ propionato de fluticasona en acumulación celular inducida por humo de cigarrillo en BALF de murino.

5	Tratamiento^a y dosis del compuesto de fórmula (I) ($\mu\text{g/mL}$)	Números de células en BAL $\times 10^4/\text{mL}^b$ (% de inhibición)	
		Macrófagos	Neutrófilos
	Aire + Vehículo (0)	3.9 ± 0.75	2.3 ± 0.33
	T + Vehículo (0)	20.1 ± 1.3	18.3 ± 2.2
	T +(I) (20)	14.9 ± 0.65 (32)	13.0 ± 0.55 (33)
10	T +(I) (200)	10.6 ± 0.02 (59)	10.2 ± 0.83 (51)
	T +(I) (2000)	7.2 ± 0.40 (80)	6.5 ± 0.55 (91)
	T +(I) (2) + FP	13.7 ± 0.63 (40)	12.4 ± 1.0 (37)
	T +(I) (20) + FP	10.1 ± 0.70 (62)	8.3 ± 0.72 (63)
	T +(I) (200) + FP	5.8 ± 0.48 (90)	4.5 ± 0.49 (86)

15 a) T = humo de tabaco, FP = propionato de fluticasona dosificado a 50 $\mu\text{g/mL}$; b) Los datos para los números de células se muestran como la media $\pm$ SEM, N=5.

En resumen, el compuesto de la invención es un potente inhibidor de las isoformas PI3 cinasa δ como γ . El perfil *in vitro* se traduce en un fenotipo antiinflamatorio amplio *in vivo*. En esta configuración, son notables los efectos inhibidores del compuesto descrito en la presente *versus* acumulación celular inducida por Poli I:C en las vías respiratorias. También es particularmente notable que, a pesar de los inhibidores selectivos de PI3

cinasa δ , el tratamiento con el compuesto descrito en la presente solo, da como resultado una inhibición marcada de la inflamación de las vías respiratorias inducida por el humo del cigarrillo y que estos efectos ocurren a dosis inferiores cuando se co-administran con un corticoesteroide, propionato de fluticasona, bajo condiciones en donde el tratamiento con el corticoesteroide solo, no tiene efecto.

En la especificación y las siguientes reivindicaciones, a menos que el contexto indique otra cosa, la palabra "comprende" y variaciones como "que comprende" y "comprendiendo" deberán considerarse como implicando la inclusión de un entero establecido, paso, grupo de enteros o grupo de pasos, pero no la exclusión de cualquier otro entero, paso, grupo de enteros o grupo de pasos.

Todas las patentes y solicitudes de patente aquí mencionadas están incorporadas como referencia en su totalidad.

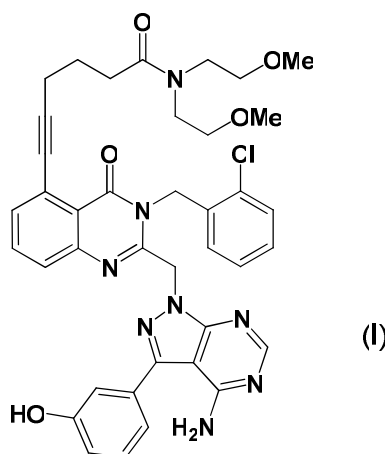
NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula (I)

5

10



que es 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il) metil)-
3-(2-clorobencil)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxietil)hex-5-
15 inamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, incluyendo todos
los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de los mismos.

2.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto
de la reivindicación 1, en combinación con uno o más diluyentes o portadores
farmacéuticamente aceptables.

20

3.- El compuesto de fórmula (I) de conformidad con cualquiera
de las reivindicaciones 1 a 2, para usarse como un medicamento.

4.- El compuesto de fórmula (I) de conformidad con la
reivindicación 1 o una composición farmacéutica de conformidad con la

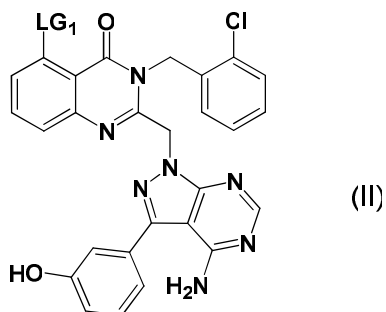
reivindicación 2, para usarse en el tratamiento o prevención de una condición seleccionada de: EPOC (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma infantil, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis por contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, inflamación de las articulaciones secundarias a la artritis reumatoide o la osteoartritis, artritis reumatoidea, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno.

10 5.- Uso de un compuesto de fórmula (I) de la reivindicación 1 o una formulación farmacéutica de la reivindicación 2, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una condición seleccionada de: EPOC (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma infantil, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis por contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, inflamación de las articulaciones secundarias a la artritis reumatoide o la osteoartritis, artritis reumatoidea, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno.

6.- Un método para el tratamiento de una condición seleccionada de: EPOC (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma infantil, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica,

rinitis, sinusitis, conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis por contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, inflamación de las articulaciones secundarias a la artritis reumatoide o la osteoartritis, artritis reumatoidea, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de
5 tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) de la reivindicación 1, o una composición farmacéutica de la reivindicación 2.

10 7.- Un intermediario de fórmula (II):



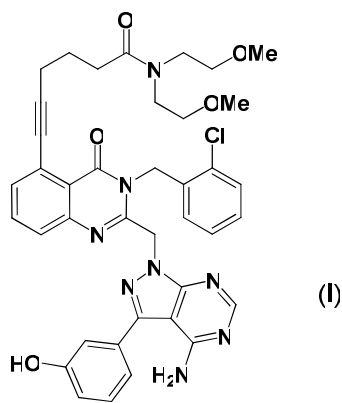
15 en donde LG1 representa un grupo saliente; o un derivado protegido del mismo.

		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) No. de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 487/04	
(22) Fecha de solicitud: 26-04-13		(71) Solicitante(s): RESPIVERT LIMITED	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 099135360 PCT/EP2010/065746	(32) Fecha 18-10-10 19-10-10	(33) País TW EP
		(72) Inventor(es): KING-UNDERWOOD, John; ITO, Kazuhiro; MURRAY, Peter John; HARDY, George; BROOKFIELD, Frederick Arthur y BROWN, Christopher John.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 18-05-13	(87) Publicación internacional	
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 26-04-12	
	Fecha de presentación de la solicitud: 18-10-11	No. publicación: WO 2012/052753 A1	
	No. de solicitud: PCT/ GB2011/052015		
(54) Titulo: “DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA”			

Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

La presente invención se refiere al compuesto de la fórmula (I)



y a composiciones que comprenden el mismo y al uso del compuesto y a composiciones del compuesto en el tratamiento, por ejemplo en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, en particular enfermedad inflamatoria respiratoria; la invención también se extiende a métodos para elaborar dicho compuesto.

Sector: Un compuesto de fórmula (I) y composiciones del mismo, el cual inhibe las fosfoinositida 3-cinasas, (PI3 cinasas), en particular el subtipo delta de PI3 cinasa.

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA** y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.



ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No. 2011-06-21-405
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS

SEPASE que yo, STEPHEN DAVID FINN de Shepherds Hey 31 Amersham Hill Drive High Wycombe Buckinghamshire Reino Unido, un Notario Público, debidamente facultado

CERTIFICO EXCLUSIVAMENTE que el documento adjunto al presente lleva la firma de WILLIAM GARTH RAPEPORT cuya identidad yo, el Notario, certifico, quien es un Director de Respivert Limited debidamente nombrado y quien por el presente tiene facultad aparente para firmar dicho documento en nombre de dicha Sociedad.

FIRMADO y sellado en 31 Amersham Hill Drive el día 15 de abril de 2011.

(firma: ilegible)
Stephen David Finn
Notario Público
Inglaterra y Gales

Protocolo No. 5601 / 19

Sello Notarial

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2011 JUN 22 P 12:12
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

APOSTILLA

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

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Este documento público
2. ha sido firmado por Stephen David Finn
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario

Certificado

5. en Londres
6. el día 31 de mayo de 2011
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y del Commonwealth
8. No. **I889203**
9. Sello/Estampilla
Sello de la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth
10. Firma: (ilegible)
C. Woolley
Por el Secretario de Estado

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
07476362

Si este documento se va a usar en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, debe presentarse en la sección consular de la misión que representa a ese país.

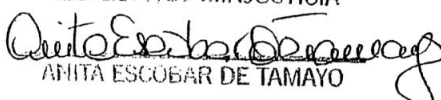
Una apostilla o certificado de legalización únicamente confirma que la firma, sello o estampilla sobre el documento es auténtica. No significa que el contenido del documento sea correcto o que la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth apruebe el contenido.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 21 de junio de 2011,
en la ciudad de Bogotá, D.C., por Aníta Escobar de Tamayo, Traductora Oficial,
Res. 2177 de 1989; Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



BE IT KNOWN that I, STEPHEN DAVID FINN of 31 Amersham Hill Drive
High Wycombe Buckinghamshire United Kingdom a duly authorised Notary
Public

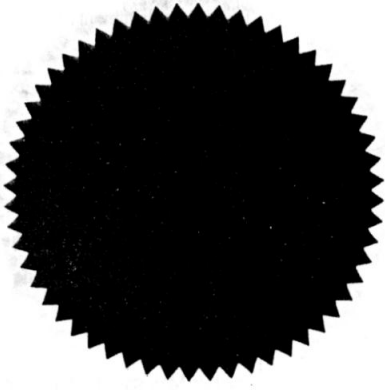
CERTIFY ONLY that the document annexed hereto bears the signature of
WILLIAM GARTH RAPEPORT whose identity I the Notary attest, who is a
duly appointed Director of Respivert Limited and who thereby has ostensible
authority to sign the said document on the said Company's behalf.

SIGNED and sealed at 31 Amersham Hill Drive aforesaid on 15th April 2011



Stephen David Finn
Notary Public
England & Wales

Protocol No. 5601/19



No firmados,

RESPIVERT LIMITED
Una sociedad organizada y
con domicilio en

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 **Stephen David Finn**
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
6. Certified/Attesté
the/le **31 May 2011**
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 **I889203**
9. Stamp:
timbre:
10. Signature: **C. Woolley**




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 5th October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the content of the document is correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the content.

RES-P893CO/90
POA Grineal

bajo firmados,

RESPIVERT LIMITED

Una sociedad organizada y existente bajo las leyes de
con domicilio en

50 - 100 Holmers Farm Way
High Wycombe
Buckinghamshire HP12 4EG
Reino Unido

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del Artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned,

RESPIVERT LIMITED

A corporation organized and existing under the laws of England & Wales

domiciled at

50 - 100 Holmers Farm Way
High Wycombe
Buckinghamshire HP12 4EG
United Kingdom

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of Article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 16TH day of MARCH, 2011



W.G. RAPEPORT
MANAGING DIRECTOR

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

(43) International Publication Date
26 April 2012 (26.04.2012)(10) International Publication Number
WO 2012/052753 A1

(51) International Patent Classification:

C07D 487/04 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)

[GB/GB]; c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA (GB). **BROWN, Christopher John** [GB/GB]; c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA (GB).

(21) International Application Number:

PCT/GB2011/052015

(74) Agents: **TEUTEN, Andrew** et al.; Sagittarius IP, Taylor House, 39 High Street, Marlow, Buckinghamshire SL7 1AF (GB).

(22) International Filing Date:

18 October 2011 (18.10.2011)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

099135360 18 October 2010 (18.10.2010) TW
PCT/EP2010/065746
19 October 2010 (19.10.2010) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): **RESPIVERT LIMITED** [GB/GB]; 50-100 Holmers Farm Way, High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **KING-UNDERWOOD, John** [GB/GB]; Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire GL19 3PW (GB). **ITO, Kazuhiko** [JP/GB]; c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ (GB). **MURRAY, Peter John** [GB/GB]; c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ (GB). **HARDY, George** [GB/GB]; Sunny Bank, Brightling Road, Robertsbridge, East Sussex TN32 5EJ (GB). **BROOKFIELD, Frederick Arthur**

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

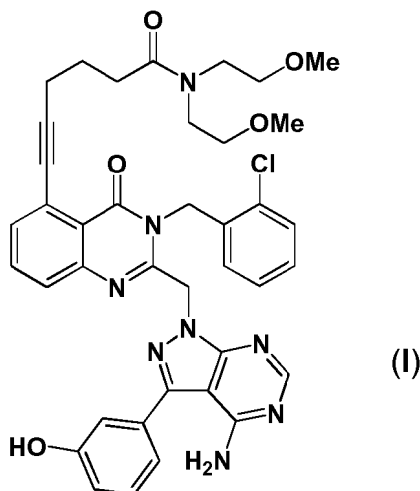
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

[Continued on next page]

(54) Title: QUINAZOLIN-4 (3H) -ONE DERIVATIVES USED AS PI3 KINASE INHIBITORS



(57) Abstract: The present invention relates to the compound of formula (I) and to compositions comprising the same and to the use of the compound and to compositions of the compound in treatment, for example in the treatment of inflammatory diseases, in particular respiratory inflammatory disease. The invention also extends to methods of making the said compound.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference RES - P1344PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/GB2011/052015	International filing date (<i>day/month/year</i>) 18/10/2011	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 19/10/2010
Applicant RESPIVERT 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
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

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:

QUINAZOLIN-4 (3H) -ONE DERIVATIVES USED AS PI3 KINASE INHIBITORS

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 No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2011/052015

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D487/04 A61K31/519 A61P11/00 A61P11/06 A61P17/00
A61P19/02 A61P35/00

ADD.

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)

C07D

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, WPI Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2007/114926 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; SHOKAT KEVAN M [US]; KNIGHT ZACHARY A [US]; APSE) 11 October 2007 (2007-10-11) PIK-294 in figure 3 [0024] alkyl can be i.a. ethynyl -claims 1,35 -----	1-7
A	WO 2005/113556 A1 (ICOS CORP [US]; FOWLER KERRY W [US]; HUANG DANWEN [US]; KESICKI EDWARD) 1 December 2005 (2005-12-01) claims 1,35 -----	1-7
X,P	WO 2011/048111 A1 (RESPIVERT LTD [GB]; KING-UNDERWOOD JOHN [GB]; ITO KAZUHIRO [GB]; MURRA) 28 April 2011 (2011-04-28) Intermediate B on page 47 -claim 1; example 73 -----	1-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"E" earlier 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.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 2011

Date of mailing of the international search report

19/12/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gettins, Marc

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2011/052015

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007114926 A2	11-10-2007	AU 2007233302 A1	11-10-2007
		AU 2007347115 A1	23-10-2008
		CA 2647391 A1	11-10-2007
		EA 200870409 A1	28-04-2009
		EA 200870410 A1	30-12-2009
		EP 2004654 A2	24-12-2008
		EP 2015752 A2	21-01-2009
		GB 2453058 A	25-03-2009
		JP 2009532476 A	10-09-2009
		JP 2009532507 A	10-09-2009
		KR 20090017498 A	18-02-2009
		KR 20090018893 A	24-02-2009
		NZ 571182 A	30-09-2010
		US 2007293516 A1	20-12-2007
		US 2008032960 A1	07-02-2008
		US 2009270426 A1	29-10-2009
		US 2010009963 A1	14-01-2010
		US 2011301144 A1	08-12-2011
		WO 2007114926 A2	11-10-2007
		WO 2008127226 A2	23-10-2008
WO 2005113556 A1	01-12-2005	AU 2005245875 A1	01-12-2005
		AU 2009230739 A1	12-11-2009
		CA 2566609 A1	01-12-2005
		CN 101031569 A	05-09-2007
		CN 102229609 A	02-11-2011
		EP 1761540 A1	14-03-2007
		JP 2007537291 A	20-12-2007
		US 2008275067 A1	06-11-2008
		US 2010256167 A1	07-10-2010
		US 2010256168 A1	07-10-2010
		WO 2005113554 A2	01-12-2005
		WO 2005113556 A1	01-12-2005
WO 2011048111 A1	28-04-2011	TW 201124418 A	16-07-2011
		WO 2011048111 A1	28-04-2011

TRADUCCION OFICIAL No. 2013-04-22-236
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

RES-P1344PCT

TRASPASO

POR CUANTO, nosotros John KING-UNDERWOOD de Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire GL19 3PW, Reino Unido, Kazuhiro ITO c/o RespiVert Limited, Imperial College Biolncubator, Level 1 Bessemer Building, Imperial College, London SW7 2AZ, Reino Unido, Peter John MURRAY c/o RespiVert Limited, Imperial College Biolncubator, Level 1 Bessemer Building, Imperial College, London SW7 2AZ, Reino Unido, George HARDY de Sunny Bank, Brightling Road, Robertsbridge, East Sussex TN32 5EJ, Reino Unido, Frederick Arthur BROOKFIELD c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido y Christopher John BROWN c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido (en adelante llamados "los Inventores") hemos inventado o descubierto "DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA" (en adelante llamada "la Invención") para la cual se presentó una solicitud de patente en Taiwán bajo el número 099135360 el 18 de octubre de 2010, una solicitud del PCT bajo el número PCT/EP2010/065746 el 19 de octubre de 2010, y una solicitud del PCT correspondiente llamada "DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA" bajo el número PCT/GB2011/052015 el 18 de octubre de 2011 (en adelante llamada "las Solicitudes");

POR CUANTO Kazuhiro ITO y Peter John MURRAY eran empleados de RespiVert Limited en el momento de hacer la Invención cuyo domicilio registrado es 50-100 Holmers Farm Way, High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG, Reino Unido (en adelante llamada "RespiVert") y por cuanto considerando que la invención fue hecha en el curso del trabajo bajo circunstancias en las que una invención puede razonablemente esperarse que resulte todos los derechos en y de la invención son traspasados a RespiVert por operación de ley, específicamente s39 de la Ley de Patentes de 1977, y además en virtud de una cláusula de traspaso específica en sus contratos de trabajo;

POR CUANTO en virtud de un contrato entre John KING-UNDERWOOD y RespiVert con vigencia el 18 de octubre de 2010 todos los derechos en la Invención propiedad de John KING-UNDERWOOD fueron transferidos a RespiVert;

POR CUANTO en virtud de un contrato entre George HARDY y RespiVert con vigencia el 18 de octubre de 2010 todos los derechos en la Invención propiedad de George HARDY fueron transferidos a RespiVert;

POR CUANTO Frederick Arthur BROOKFIELD y Christopher John BROWN eran empleados de Evotec (UK) Limited en el momento de hacer la Invención cuyo domicilio es 114-Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido (en adelante llamada "Evotec") y por cuanto considerando que la invención fue hecha en el curso del trabajo bajo circunstancias en las que una invención puede razonablemente esperarse que resulte todos los derechos en y de la invención son traspasados a Evotec por operación de ley, específicamente s39 de la Ley de Patentes de 1977, y además en virtud de una cláusula de traspaso específica en sus contratos de trabajo;

POR CUANTO en virtud de un contrato entre Evotec y RespiVert con vigencia el 18 de octubre de 2010 todos los derechos en la Invención propiedad de Evotec fueron transferidos a RespiVert;

POR CUANTO los Inventores y Evotec y RespiVert han autorizado y solicitado la presentación de las Solicitudes;

AHORA, POR LO TANTO, a todos a quienes concierna sépase que por una contraprestación de las sumas establecidas en los contratos anteriormente mencionados y la suma de £1 (una libra esterlina) la suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, nosotros los Inventores y Evotec por medio de su funcionario autorizado confirmamos la propiedad de RespiVert de la Invención y las Solicitudes y por el presente traspasamos y transferimos a RespiVert todo el derecho, título e interés de propiedad en y de la Invención y las Solicitudes y a cualquier derecho de prioridad para todos los territorios del mundo respecto de la Invención y las Solicitudes y en y de cualquier solicitud divisional, continuación o continuación en parte de la misma, y en y de cualquier extensión o reexpedición de las misma, o Certificado de Protección Complementario con base en ello, y nosotros los Inventores y Evotec por medio de su funcionario autorizado por el presente autorizamos y solicitamos que cualquier patente que surja de ello en cualquier territorio del mundo sea expedida a RespiVert;

Y nosotros los Inventores para nosotros mismos y nuestros respectivos ejecutores y representantes legales por el presente y Evotec por medio de su funcionario autorizado acordamos proporcionar información y haremos ejecutar y entregar cualquier y todos los otros instrumentos por escrito, y cualquiera y todos los actos, solicitudes, papeles, affidávits, traspasos y otros documentos adicionales que sean posibles y necesarios o deseables para asegurar y traspasar más efectivamente en RespiVert, sus sucesores y cesionarios, todo el derecho, título e interés en y de la Invención y las Solicitudes.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, con vigencia el 18 de octubre de 2010 los Inventores, Evotec por medio de su funcionario autorizado y RespiVert por medio de su funcionario autorizado hemos colocado nuestras respectivas firmas:

FIRMADO por Kazuhiro ITO:

(firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible) JG Williams

FIRMADO por Peter John MURRAY:

(firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible)

FIRMADO por John KING-UNDERWOOD:

(firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible)

FIRMADO por George HARDY:

.....

en presencia de:

.....

FIRMADO por Frederick Arthur BROOKFIELD:

(firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible)

FIRMADO por Christopher John BROWN:

(firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible)

FIRMADO por Evotec:

(firma: ilegible)

Nombre: Dr. Mario Polywka

Competencia: Principal Funcionario Operativo

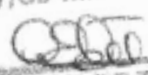
FIRMADO por RespiVert;

(firma: ilegible)

Nombre: WG Rapepori

Competencia: Director Administrativo

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 22 de abril de 2013, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

TRADUCCION OFICIAL No. 2013-04-22-237
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

RES-P010 GBp, PCT, AR y TW

TRASPASO

POR CUANTO, nosotros John KING-UNDERWOOD de Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire GL19 3PW, Reino Unido, Kazuhiro ITO c/o RespiVert Limited, Imperial College Biolncubator, Level 1 Bessemer Building, Imperial College, London SW7 2AZ, Reino Unido, Peter John MURRAY c/o RespiVert Limited, Imperial College Biolncubator, Level 1 Bessemer Building, Imperial College, London SW7 2AZ, Reino Unido, George HARDY de Sunny Bank, Brightling Road, Robertsbridge, East Sussex TN32 5EJ, Reino Unido, Frederick Arthur BROOKFIELD c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido y Christopher John BROWN c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido (en adelante llamados "los Inventores") hemos inventado o descubierto "DERIVADOS DE QUINAZOLIN-4 (3H)-ONA UTILIZADOS COMO INHIBIDORES DE PI3 CINASA" (en adelante llamada "la Invención") para la cual se presentó una solicitud de patente en el Reino Unido bajo el número 0918249.4 el 19 de octubre de 2009 y una solicitud del PCT correspondiente bajo el número PCT/EP2010/065746 el 19 de octubre de 2009 y para la cual se han presentado solicitudes correspondientes en Taiwán y Argentina (en adelante llamada "las Solicitudes");

POR CUANTO Kazuhiro ITO y Peter John MURRAY eran empleados de RespiVert Limited en el momento de hacer la Invención cuyo domicilio registrado es 265 Strand, London WC2R 1BH, Reino Unido (en adelante llamada "RespiVert") y por cuanto considerando que la invención fue hecha en el curso del trabajo bajo circunstancias en las que una invención puede razonablemente esperarse que resulte todos los derechos en y de la invención son traspasados a RespiVert por operación de ley, específicamente s39 de la Ley de Patentes de 1977, y además en virtud de una cláusula de traspaso específica en sus contratos de trabajo;

POR CUANTO en virtud de un contrato entre John KING-UNDERWOOD y RespiVert con vigencia el 19 de octubre de 2010 todos los derechos en la Invención propiedad de John KING-UNDERWOOD fueron transferidos a RespiVert;

POR CUANTO en virtud de un contrato entre George HARDY y RespiVert con vigencia el 19 de octubre de 2010 todos los derechos en la Invención propiedad de George HARDY fueron transferidos a RespiVert;

POR CUANTO Frederick Arthur BROOKFIELD y Christopher John BROWN eran empleados de Evotec (UK) Limited en el momento de hacer la Invención cuyo domicilio es 114-Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, Reino Unido (en adelante llamada "Evotec") y por cuanto considerando que la invención fue hecha en el curso del trabajo bajo circunstancias en las que una invención puede razonablemente esperarse que resulte todos los derechos en y de la invención son traspasados a Evotec por operación de ley, específicamente s39 de la Ley de Patentes de 1977, y además en virtud de una cláusula de traspaso específica en sus contratos de trabajo;

POR CUANTO en virtud de un contrato entre Evotec y RespiVert con vigencia el 18 de octubre de 2010 todos los derechos en la Invención propiedad de Evotec fueron transferidos a RespiVert;

POR CUANTO los Inventores y Evotec y RespiVert han autorizado y solicitado la presentación de las Solicitudes;

AHORA, POR LO TANTO, a todos a quienes concierna sépase que por una contraprestación de las sumas establecidas en los contratos anteriormente mencionados y la suma de £1 (una libra esterlina) la suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, nosotros los Inventores y Evotec por medio de su funcionario autorizado confirmamos la propiedad de RespiVert de la Invención y las Solicitudes y por el presente traspasamos y transferimos a RespiVert todo el derecho, título e interés de propiedad en y de la Invención y las Solicitudes y a cualquier derecho de prioridad para todos los territorios del mundo respecto de la Invención y las Solicitudes y en y de cualquier solicitud divisional, continuación o continuación en parte de la misma, y en y de cualquier extensión o reexpedición de las misma, o Certificado de Protección Complementario con base en ello, y nosotros los Inventores y Evotec por medio de su funcionario autorizado por el presente autorizamos y solicitamos que cualquier patente que surja de ello en cualquier territorio del mundo sea expedida a RespiVert;

Y nosotros los Inventores para nosotros mismos y nuestros respectivos ejecutores y representantes legales por el presente y Evotec por medio de su funcionario autorizado acordamos proporcionar información y haremos ejecutar y entregar cualquier y todos los otros instrumentos por escrito, y

cualquiera y todos los actos, solicitudes, papeles, affidávits, traspasos y otros documentos adicionales que sean posibles y necesarios o deseables para asegurar y traspasar más efectivamente en RespiVert, sus sucesores y cesionarios, todo el derecho, título e interés en y de la Invención y las Solicitudes.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, con vigencia el 19 de octubre de 2010 los Inventores, Evotec por medio de su funcionario autorizado y RespiVert por medio de su funcionario autorizado hemos colocado nuestras respectivas firmas:

FIRMADO por Frederick Arthur BROOKFIELD: (firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible)

FIRMADO por Christopher John BROWN: (firma: ilegible)

en presencia de:

(firma: ilegible)

FIRMADO por Evotec:

(firma: ilegible)

Nombre: (ilegible)

David Hallett

Competencia: Secretario de la Compañía

Químico EVP

Principal Funcionario Operativo

FIRMADO por RespiVert;

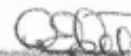
(firma: ilegible)

Nombre: WG Rapepori

Competencia: Director Administrativo

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 22 de abril de 2013, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA



ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

ASSIGNMENT

WHEREAS WE John KING-UNDERWOOD of Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire GL19 3PW, United Kingdom, **Kazuhiro ITO** c/o RespiVert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1 Bessemer Building, Imperial College, London SW7 2AZ, United Kingdom, **Peter John MURRAY** c/o RespiVert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1 Bessemer Building, Imperial College, London SW7 2AZ, United Kingdom, **George HARDY** of Sunny Bank, Brightling Road, Robertsbridge, East Sussex TN32 5EJ, United Kingdom, **Frederick Arthur BROOKFIELD** c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, United Kingdom and **Christopher John BROWN** c/o Evotec (UK) Limited, 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4SA, United Kingdom (hereinafter called "**the Inventors**") have invented or discovered "**Compounds**" (hereinafter called "**the Invention**") for which a patent application in Taiwan was filed under number 099135360 on 18 October 2010, a PCT application was filed under number PCT/EP2010/065746 on 19 October 2010 and a corresponding PCT application entitled "**Compound**" was filed under number PCT/GB2011/052015 on 18 October 2011 (hereinafter called "**the Applications**");

WHEREAS Kazuhiro ITO and **Peter John MURRAY** were employed at the time of making of the **Invention** by **RespiVert Limited** whose registered address is 50-100 Holmers Farm Way, High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG, United Kingdom (hereinafter called "**RespiVert**") and whereas bearing in mind that the invention was made in the course of employment under circumstances whereby an invention may reasonably be expected to result all rights in and to the invention are assigned to **RespiVert** by operation of law, specifically s39 of the Patents Act 1977, and moreover by virtue of a specific assignment clause in their contracts of employment;

WHEREAS by virtue of an agreement between **John KING-UNDERWOOD** and **RespiVert** effective as of 18th October 2010 all rights owned in the **Invention** owned by **John KING-UNDERWOOD** were transferred to **RespiVert**;

WHEREAS by virtue of an agreement between **George HARDY** and **RespiVert** effective as of 18th October 2010 all rights owned in the **Invention** owned by **George HARDY** were transferred to **RespiVert**;

WHEREAS **Frederick Arthur BROOKFIELD** and **Christopher John BROWN** were employed at the time of making of the **Invention** by **Evotec (UK) Limited** of 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire, OX14 4SA, United Kingdom (herein after called "**Evotec**") and whereas bearing in mind that the invention was made in the course of employment under circumstances whereby an invention may reasonably be expected to result all rights in and to the invention are assigned to **Evotec** by operation of law, specifically s39 of the Patents Act 1977, and moreover by virtue of a specific assignment clause in their contracts of employment;

WHEREAS by virtue of an agreement between **Evotec** and **RespiVert** effective as of 18th October 2010 all rights in the **Invention** owned by **Evotec** were transferred to **RespiVert**;

WHEREAS the **Inventors** and **Evotec** and **RespiVert** have authorised and requested the filing of the **Applications**;

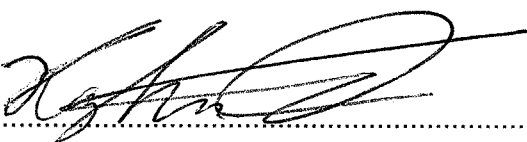
NOW, THEREFORE, to all whom it may concern be it known that for consideration of the amounts set out in the aforementioned agreements and the sum of £1 (one pound sterling) the sufficiency of which is hereby acknowledged, we the **Inventors** and **Evotec** through its authorised official hereby confirm the ownership by **RespiVert** of the **Invention** and the **Applications** and hereby assign and transfer to **RespiVert** all ownership right, title and interest in and to the **Invention** and the **Applications** and to any priority rights for all territories of the world in respect of the **Invention** and the **Applications** and in and to any divisional application, continuation or continuation in part application thereof, and in and to any extension, or re-issue thereof, or Supplementary Protection Certificate based thereon, and we the **Inventors** and **Evotec** through its authorised official hereby authorise and request any patent arising therefrom in any territory of the world be issued to **RespiVert**;

AND we the **Inventors** for ourselves and our respective executors and legal representatives hereby and **Evotec** through its authorised official agree to provide

information and make execute and deliver any and all other instruments in writing, and any and all further acts, applications, papers, affidavits, assignments and other documents which may be possible and are necessary or desirable to more effectually secure to and vest in **RespiVert** its successors and assigns, the whole right, title and interest in and to the **Invention** and the **Applications**.

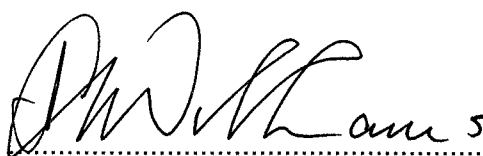
IN WITNESS whereof and with effect from 18th October 2010 the **Inventors, Evotec** through its authorised official and **RespiVert** through its authorised official have hereunto set their respective hands:

SIGNED by Kazuhiro ITO:



.....

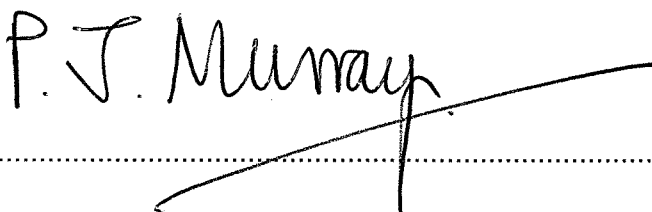
in the presence of:



JG WILLIAMS

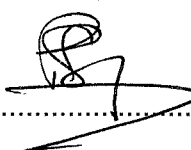
.....

SIGNED by Peter John MURRAY:



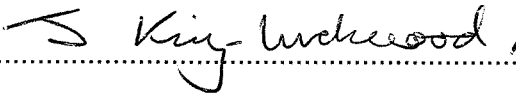
.....

in the presence of:

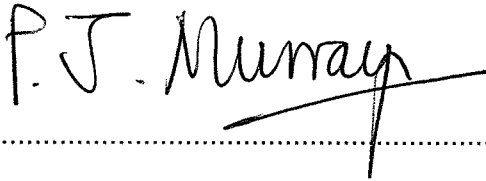


.....

SIGNED by John KING-UNDERWOOD:


.....

in the presence of:


.....

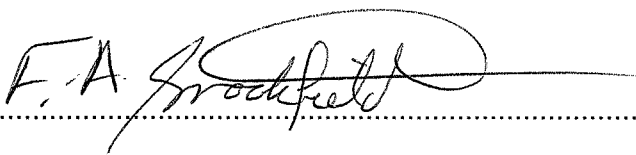
SIGNED by George HARDY:

.....

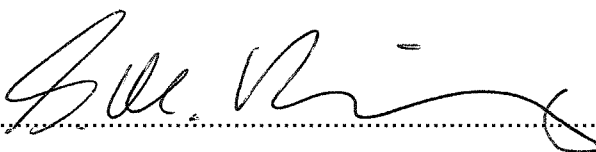
in the presence of:

.....

SIGNED by Frederick Arthur BROOKFIELD:


.....

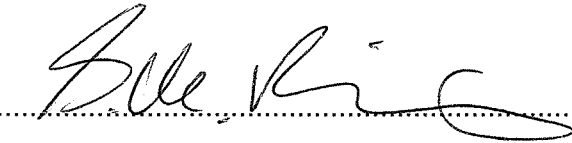
in the presence of:


.....

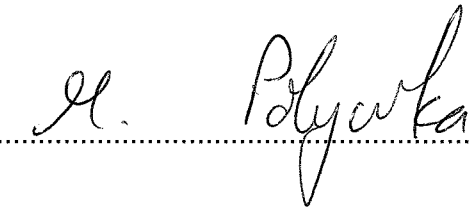
SIGNED by Christopher John BROWN:



in the presence of:



SIGNED by Evotec:



Name: DR MARIO POLYNWKA

Capacity: Chief Operating Officer

SIGNED by RespiVert:



Name: WG Rapoport

Capacity: Managing Director

ASSIGNMENT

WHEREAS WE John KING-UNDERWOOD of Moorend Cottage, School Lane, Pendock Worcestershire GL19 3PW, **Kazuhiro ITO** c/o RespiVert Ltd. Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ, , **Peter John MURRAY** c/o RespiVert Ltd. Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ, **George HARDY** of Sunny Bank, Brightling Road, Robertsbridge East Sussex TN32 5EJ, **Frederick Arthur BROOKFIELD** c/o Evotec (UK) Ltd 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire, OX14 4SA, UK and **Christopher John BROWN** c/o Evotec (UK) Ltd 114 Milton Park, Abingdon, Oxfordshire, OX14 4SA, UK (hereinafter called "**the Inventors**") have invented or discovered "**Compounds**" (hereinafter called "**the Invention**") for which a patent application in the United Kingdom was filed under number 0918249.4 on 19 October 2009 and a corresponding PCT application was filed under number PCT/EP2010/065746 on 19 October 2010 and for which corresponding applications have also been filed in Taiwan and Argentina (hereinafter called "**the Applications**");

WHEREAS Kazuhiro ITO and **Peter John MURRAY** were employed at the time of making of the **Invention** by **RespiVert Limited** whose registered address is 265 Strand, London WC2R 1BH, United Kingdom (hereinafter called "**RespiVert**") and whereas bearing in mind that the invention was made in the course of employment under circumstances whereby an invention may reasonably be expected to result all rights in and to the invention are assigned to **RespiVert** by operation of law, specifically s39 of the Patents Act 1977, and moreover by virtue of a specific assignment clause in their contracts of employment;

WHEREAS by virtue of an agreement between **John KING-UNDERWOOD** and **Respivert** effective as of 19th October 2009 all rights owned in the **Invention** owned by **John KING-UNDERWOOD** were transferred to **RespiVert**;

WHEREAS by virtue of an agreement between **George HARDY** and **Respivert** effective as of 19th October 2009 all rights owned in the **Invention** owned by **George HARDY** were transferred to **RespiVert**;

WHEREAS Frederick Arthur BROOKFIELD and **Christopher John BROWN** were employed at the time of making of the **Invention** by **Evotec (UK) Ltd** of 114 Milton Park,

SIGNED by Kazuhiro ITO:

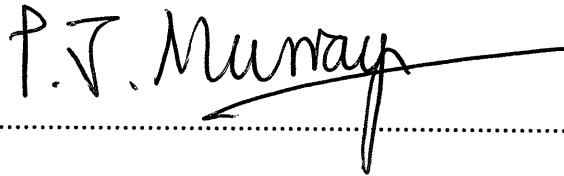


in the presence of:

Amber Reynolds



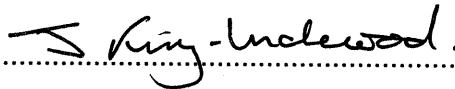
SIGNED by Peter John MURRAY:



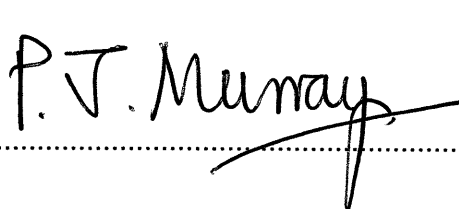
in the presence of:


M. DARWENT

SIGNED by John KING-UNDERWOOD:



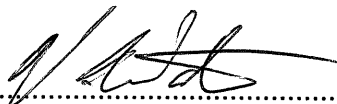
in the presence of:

 (P.J. MURRAY)

SIGNED by George HARDY:



in the presence of:



(V. WATSON)

1 LARKFIELD ROAD

SEVENOAKS

KENT TN13 2QM

Abingdon, Oxfordshire, OX14 4SA, UK (herein after called "Evotec") and whereas bearing in mind that the invention was made in the course of employment under circumstances whereby an invention may reasonably be expected to result all rights in and to the invention are assigned to **Evotec** by operation of law, specifically s39 of the Patents Act 1977, and moreover by virtue of a specific assignment clause in their contracts of employment;

WHEREAS by virtue of an agreement between **Evotec** and **RespiVert** effective as of 19th October 2009 all rights in the **Invention** owned by **Evotec** were transferred to **RespiVert**;

WHEREAS the **Inventors** and **Evotec** and **RespiVert** have authorised and requested the filing of the **Applications**;

NOW, THEREFORE, to all whom it may concern be it known that for consideration of the amounts set out in the aforementioned agreements and the sum of £1 (one pound sterling) the sufficiency of which is hereby acknowledged, we the **Inventors** and **Evotec** through its authorised official hereby confirm the ownership by **RespiVert** of the **Invention** and the **Applications** and hereby assign and transfer to **RespiVert** all ownership right, title and interest in and to the **Invention** and the **Applications** and to any priority rights for all territories of the world in respect of the **Invention** and the **Applications** and in and to any divisional application, continuation or continuation in part application thereof, and in and to any extension, or re-issue thereof, or Supplementary Protection Certificate based thereon, and we the **Inventors** and **Evotec** through its authorised official hereby authorise and request any patent arising therefrom in any territory of the world be issued to **RespiVert**;

AND we the **Inventors** for ourselves and our respective executors and legal representatives hereby and **Evotec** through its authorised official agree to provide information and make execute and deliver any and all other instruments in writing, and any and all further acts, applications, papers, affidavits, assignments and other documents which may be possible and are necessary or desirable to more effectually secure to and vest in **RespiVert** its successors and assigns, the whole right, title and interest in and to the **Invention** and the **Applications**.

IN WITNESS whereof and with effect from 19th October 2009 the **Inventors**, **Evotec** through its authorised official and **RespiVert** through its authorised official have hereunto set their respective hands:

SIGNED by Frederick Arthur BROOKFIELD:


.....

in the presence of:


.....
M. AKERLY

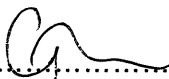
SIGNED by Christopher John BROWN:


.....

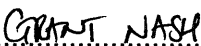
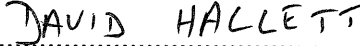
in the presence of:


.....
SANJEET SEHMI

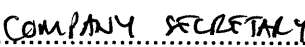
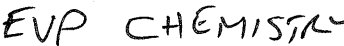
SIGNED by Evotec:


.....

Name:

 GRANT NASH  DAVID HALLETT
.....

Capacity:

 COMPANY SECRETARY  EVP CHEMISTRY
.....

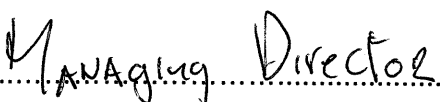
SIGNED by RespiVert:


.....

Name:


.....
W G RAPOPORT

Capacity:


.....
MANAGING DIRECTOR