



Organización y
Distribución CSA Ltda

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

cc
QF
201
R6F

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

09-48110

21. **EXPEDIENTE No.**

54. **TÍTULO**

FORMA POLIMORFICA DE 4-(3-(4-CICLOPROPANCARBONIL-

PIPERAZIN-1-CARBONIL)-4-FLUOROBENCIL)-2H-FTALAZIN-1-ONA

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL**

71. **SOLICITANTE**

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

DOMICILIO

LONDON, REINO UNIDO

74. **APODERADO**

EMILIO FERRERO

C.C. 438.019 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D. C.,**

(FORMA P-10)

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-048110- -00000-0000

Fecha: 2009-05-12 16:56:11 Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION Folios: 138

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

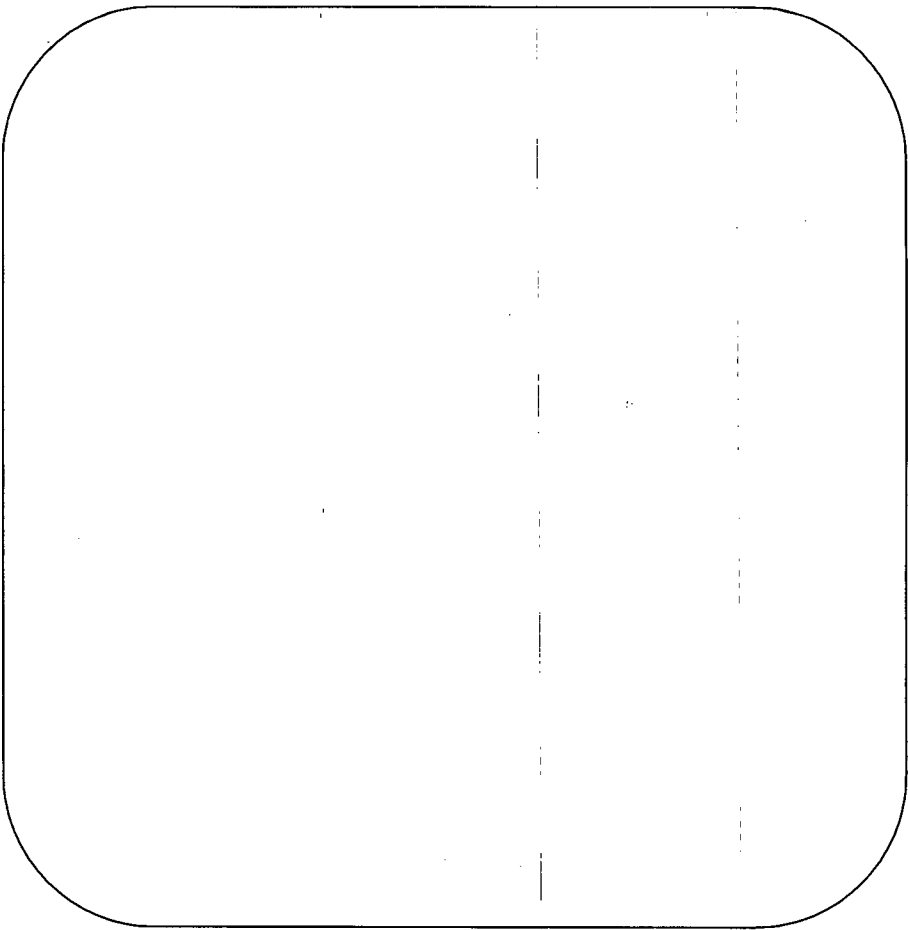
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1		SOLICITUD DE:	
☒ Patente de Invención.		☐ Patente de Modelo de Utilidad.	
☒ Capítulo I.		☐ Capítulo II.	
2	Nombre: KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED		IDENTIFICACIÓN
SOLICITANTE (71)	Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Reino Unido.		
	Dirección: 15 Stanhope Gate, London Greater, London W1K 1LN, Reino Unido		C.C. ☐ NIT ☐
	Domicilio: London, Reino Unido		C.E. ☐ Otro ☐
			Cual _____
			Número _____
3	Nombre: EMILIO FERRERO		IDENTIFICACIÓN
REPRESENTANTE O APODERADO	Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35		
	Teléfono: 347 36 11		C.C. ☒ NIT ☐
	Fax: 211 86 50		C.E. ☐ Otro ☐
	E-mail: clientes@cavelier.com		Cual _____
	Domicilio: Bogotá, Colombia.		Número 438.019 T.P 31.929
4	1. Keith Allan MENEAR ✓		
INVENTOR (ES) (72)	KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED, 410Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge Cambridgeshire CB4 0PE, Reino Unido		
	3. Derek John LONDESBROUGH ✓		
	ONYX SCIENTIFIC LIMITED, Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland Tyne And Wear SR5 2TQ, Reino Unido		
	5. Keith Raymond MULLHOLLAND ✓		
	AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA Reino Unido		
	7. David Dermot Patrick LAFFAN ✓		
	AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA Reino Unido		
	9. Martin Francis JONES ✓		
	AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA Reino Unido		
	2. Anthony Peter OTTRIDGE ✓		
	KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED 410Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge Cambridgeshire CB4 0PE, Reino Unido		
	4. Michael Raymond HALLETT ✓		
	ONYX SCIENTIFIC LIMITED, Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland Tyne And Wear SR5 2TQ, Reino Unido		
	6. John David PITTAM ✓		
	AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA Reino Unido		
	8. Ian Woodward ASHWORTH ✓		
	AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA Reino Unido		
	10. Jannette Helen CHERRYMAN ✓		
	AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA Reino Unido		

5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/GB2007/003888</u> Fecha: <u>15 de octubre de 2007</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2008/047082 A3</u> Fecha: <u>24 de abril de 2008</u>											
6 Título (54) FORMA POLIMÓRFICA DE 4-[3-(4-CICLOPROPANCARBONIL-PIPERAZIN-1-CARBONIL)-4-FLUOROBENCIL]-2H-FTALAZIN-1-ONA											
7 Clasificación Internacional (51) <u>C07D 237/032</u>											
8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud								
	<u>US</u>	<u>17/10/2006</u>	<u>60/829,694</u>								
9 <table><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>09-29,816</u></td><td>Fecha: <u>20 de abril de 2009</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>09-32,233</u></td><td>Fecha: <u>30 de abril de 2009</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>09-21,270</u></td><td>Fecha: <u>17 de marzo de 2009</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>09-21,271</u></td><td>Fecha: <u>17 de marzo de 2009</u></td></tr></table>				Comprobante de pago No.: <u>09-29,816</u>	Fecha: <u>20 de abril de 2009</u>	Comprobante de pago No.: <u>09-32,233</u>	Fecha: <u>30 de abril de 2009</u>	Comprobante de pago No.: <u>09-21,270</u>	Fecha: <u>17 de marzo de 2009</u>	Comprobante de pago No.: <u>09-21,271</u>	Fecha: <u>17 de marzo de 2009</u>
Comprobante de pago No.: <u>09-29,816</u>	Fecha: <u>20 de abril de 2009</u>										
Comprobante de pago No.: <u>09-32,233</u>	Fecha: <u>30 de abril de 2009</u>										
Comprobante de pago No.: <u>09-21,270</u>	Fecha: <u>17 de marzo de 2009</u>										
Comprobante de pago No.: <u>09-21,271</u>	Fecha: <u>17 de marzo de 2009</u>										
10 Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 540.000.oo. ☒ Comprobante de pago por 11 reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por \$275.000.oo. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☐ Poderes, si fuere el caso. ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☐ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS											

11

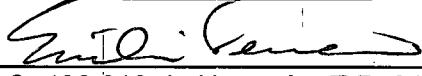
FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA : 
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/047082 A3

Descripción:

Páginas 31 en el idioma original

Páginas 36 en español

Reivindicaciones: Número (s) 26

Figuras: Número (s) 5

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional:

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

2138 5

col.

SAVILLE & CO

NOTARIES

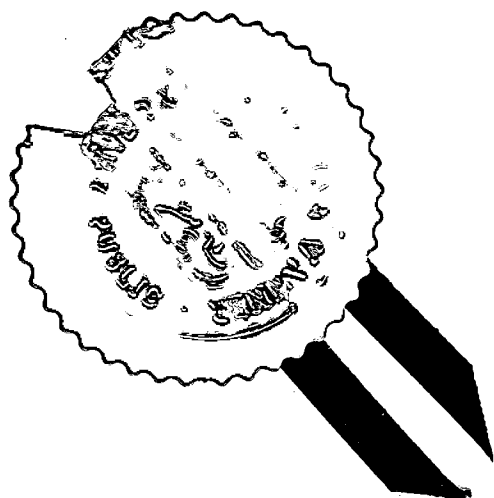
One Carey Lane
London EC2V 8AE
Telephone: +44 (0)20 7920 0000
Facsimile: +44 (0)20 7920 0088
www.savillenotaries.com
mail@savillenotaries.com

Richard Saville
Ian Campbell
Sophie Milburn
Nicholas Thompson



TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME, I
JAMES IAN VANNER of the City of London
NOTARY PUBLIC by royal authority duly admitted and sworn
DO HEREBY CERTIFY that the photographic copy hereunto
annexed is a true copy of the original **assignment of invention
and related intellectual property rights** of which it purports
to be a copy, I having carefully collated and compared the said
copy with the said original and found the same to agree
therewith.

IN FAITH AND TESTIMONY WHEREOF I the said notary
have subscribed my name and set and affixed my seal of office
at London aforesaid this twentieth day of March two thousand
and nine.



L60

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 **James Ian Vanner**
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. the/le **23 March 2009**
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 **I099894**

9. Stamp:
timbre:

10. Signature: **C Prendergast**



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

**ASSIGNMENT OF INVENTION
AND RELATED INTELLECTUAL PROPERTY RIGHTS**

Parties:

1 'The Inventors'

KEITH ALLAN MENEAR

of Kudos Pharmaceuticals Limited, 410 Cambridge Science Park, Milton Road,
Cambridge CB4 0PE, United Kingdom

ANTHONY PETER OTTRIDGE

of Kudos Pharmaceuticals Limited, 410 Cambridge Science Park, Milton Road,
Cambridge CB4 0PE, United Kingdom

2 'The Assignee'

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

of 15 Stanhope Gate, London, W1K 1LN, United Kingdom

Recitals:

(A) The Inventors are joint inventors with others of the invention or inventions entitled Phthalazinone Derivatives ("the Invention") for which the United States Patent Application ("The Priority Application") and the patent applications claiming priority from the Priority Application ("the International Applications") set forth in the schedule hereto have been filed

(B) The Inventors were at all relevant times employed by the Assignee and by the terms of their employment and the operation of the United Kingdom Patents Act 1977 any and all of their rights in and to the Invention belong to the Assignee

(C) To facilitate the prosecution of intellectual property protection for the Invention the Inventors have agreed to assign to the Assignee for the consideration hereinafter mentioned any and all rights title and interest they may have in to and under the Invention, the Priority Application and the International Applications for all countries designated therein

Operative provisions:

In consideration for the payment of £1.00 and other valuable consideration by the Assignee to the Inventors the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged by the Inventors:

1 The Inventors hereby sell and assign to the Assignee absolutely and free from incumbrances:

1.1 all their rights title and interest in all countries of the world in to and under the Invention, the Priority Application and the International Applications and all national and regional phases thereof and any and all divisionals, continuations and continuations-in-part of any of the aforesaid applications and any and all patents that may be granted pursuant thereto for the full period thereof including any re-issues, re-examinations, renewals, extensions and

Supplementary Protection Certificates and including all rights and powers arising or accrued therefrom including the right to sue for damages and other remedies in respect of any infringement of any such rights before on or after the date hereof and to retain any damages obtained as a result of such action;

1.2 all such rights as they may have to apply for prosecute and obtain patents and other intellectual property protection anywhere in the world in respect of the Invention to the intent that the grant of any patents or other intellectual property protection for the Invention shall be in the name of and shall vest in the Assignee or its successors or assigns;

1.3 all such rights as they may have to claim priority from the Priority Application in any and all applications for patent protection for the Invention, such rights to be enjoyed by the Assignee with effect from the date of filing of the International Applications;

to the intent that the Assignee shall have and hold the rights title and interest hereby assigned as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by the Inventors had this assignment not been made.

2 The Inventors hereby GRANT the firm of Mewburn Ellis LLP the power to insert in the Schedule to this Assignment any further identification of any patent applications in any countries or regions of the world which fall within the scope of clause 1 above, as may be necessary or desirable in order to comply with the rules of the any Patent Office for recordation of this document. It is understood and agreed that the Assignee's attorneys Mewburn Ellis LLP have represented only the Assignee and will continue to represent only the Assignee with respect to this invention.

3 The Inventors hereby UNDERTAKE that at the request and cost of the Assignee or its successors or assigns they will at all times hereafter promptly do all such acts and execute all such documents (including but not limited to documents required to be signed by or on behalf of inventors in the course of any and all Canadian and United States patent applications which relate to the Invention and any and all divisionals, continuations and continuations-in-part of any such applications) as may be reasonably necessary or desirable to secure the vesting in the Assignee or its successors or assigns of all rights title and interest assigned to the Assignee hereunder and to confirm the title of the Assignee or its successors or assigns to all such rights title and interest and to assist in the resolution of any question concerning the Invention or any application for patent or other intellectual property protection for the Invention or any intellectual property protection granted pursuant to any such application.

4 The Inventors hereby request the relevant authorities in all countries of the world to issue any patents granted for the Invention in the name of the Assignee or its successors or assigns in accordance with this assignment.

5 This assignment and undertaking shall be binding upon the Inventors' heirs, executors, administrators, successors and/or assigns and shall enure to the benefit of any heirs, executors, administrators, successors and/or assigns of the Assignees.

IN WITNESS WHEREOF the parties hereto have executed this assignment and undertaking

SCHEDULE

The Priority Application

COUNTRY	APPLN No.	FILING DATE
US	60/829,694	17 October 2006

The International Applications

COUNTRY	APPLN No.	FILING DATE
PCT	PCT/GB2007/003888	15 October 2007
US	11/873671	17 October 2007
AR	P070104583	16 October 2007
CL	2007-2967	16 October 2007
PK	-	25 September 2007
PE	01394.2007	16 October 2007
SA	07280551	20 October 2007
TW	09138353	12 October 2007
TH	0701005190	15 October 2007
UY	30.639	12 October 2007
VE	02222-2007	11 October 2007

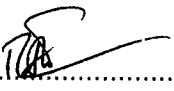
SIGNED by

KEITH ALLAN MENEAR

on: 14/11/2008

in the presence of:

Witness

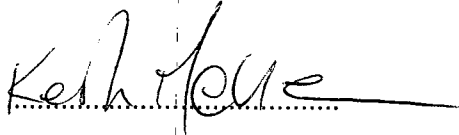
Signature: 

Name: ROGER JAMES WATSON

Address: YORK HOUSE

23 KINGSWAY

LONDON, WC2B 6HP

Signature: 

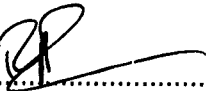
SIGNED by

ANTHONY PETER O'TTRIDGE

on: 14 Jan 2008

in the presence of:

Witness

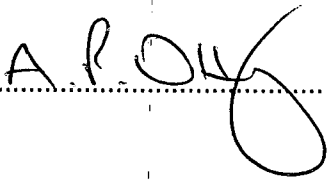
Signature: 

Name: ROBERT JAMES WATSON

Address: YORK HOUSE

23 KINGSWAY

LONDON, WC2B 6HP

Signature: 

9.

SIGNED for and on behalf of)

KUDOS PHARMACEUTICALS)

LIMITED)

on: 26 FEBRUARY 2008)

in the presence of:)

Witness

Signature: T. J. Dobson

Name: TIMOTHY JOHN DOBSON

Address: 130 BANK STREET
MACCLESFIELD
CHESHIRE SK11 7AY

Signature: T. Bryant

Name: TRACEY BRYANT

Position: PATENT BUSINESS PARTNER
ONCOLOGY + INFECTION

P P

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 04.29/09d realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

CESIÓN DE INVENCION
Y DE DERECHOS CONEXOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Partes:

1 "Los Cedentes"

KEITH ALLAN MENEAR

domiciliado en Kudos Pharmaceuticals Limited, 410 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0PE, Reino Unido

ANTHONY PETER OTTRIDGE

2 "El Cesionario"

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

domiciliado en 15 Stanhope Gate, Londres, W1K 1LN, Reino Unido

Considerando:

(A) Que los Cedentes son los inventores conjuntamente con otros de la invención o invenciones tituladas Derivados de Ftalazinona ("la Invención") para la cual se ha presentado la solicitud de patente de los Estados Unidos ("la Solicitud Prioritaria") y las solicitudes de patente que reivindican prioridad en la Solicitud Prioritaria ("las Solicitudes Internacionales") relacionadas en el anexo al presente

(B) Los inventores estaban durante el período relevante empleados por el Cesionario y de acuerdo a los términos de su empleo y la operación de la Ley de Patentes del Reino Unido de 1977 todos los derechos que ellos tengan en la Invención son propiedad del Cesionario.

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA

12

(C) Para facilitar el trámite de la protección de propiedad intelectual para la invención, los Inventores han acordado ceder al Cesionario por la contraprestación mencionada a continuación cualquier y todos los derechos, título e interés que puedan tener en y a la invención, a la Solicitud Prioritaria y las Solicitudes Internacionales para todos los países designados en las mismas.

Disposiciones operativas:

En contraprestación por el pago de \$1.00 libra esterlina y de otras contraprestaciones válidas a los Inventores y a la Compañía Cedente el recibo y suficiencia de las cuales por el presente reconocen los Inventores:

1 Los Inventores por el presente venden y ceden al Cesionario, completa y enteramente sin gravámenes:

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL

1.1 todos sus respectivos derechos, títulos e intereses en todos los países del mundo en, a y sobre la Invención, las Solicitud Prioritaria y las Solicitudes Internacionales así como todas las fases nacionales y regionales de las mismas y cualquier y todas las divisionales, continuaciones y continuaciones en parte de cualquiera de las anteriores solicitudes, así como cada una y todas las patentes que les lleguen a ser otorgadas a las mismas durante todo su término incluyendo nuevas publicaciones, nuevos exámenes, renovaciones, prórrogas y Certificados de Protección Complementaria e incluyendo todos los derechos y prerrogativas que surjan o se adquieran de las mismas, incluyendo el derecho a presentar demandas por daños y perjuicios y otros recursos relativos a cualquier infracción de dichos derechos con anterioridad o posterioridad a la fecha del presente y a conservar cualquier indemnización por daños y perjuicios que se obtenga como resultado de dichas acciones;

1.2 todos aquellos derechos que puedan tener para solicitar el trámite y obtención de patentes y de otras formas de protección de propiedad intelectual en cualquier lugar del mundo con respecto a la Invención con el objeto de que cualquier patente o protección de propiedad intelectual para la Invención sea otorgada a nombre y sea investida en el Cesionario o sus sucesores o cesionarios;

1.3 todos aquellos derechos que puedan tener para reivindicar prioridad con fundamento en la Solicitud Prioritaria, así como en cualquier y todas las solicitudes de protección de patente para la Invención, para que dichos derechos sean disfrutados por el Cesionario con vigencia a partir de la fecha de presentación de las Solicitudes Internacionales;

con el objeto de que el Cesionario tenga y posea los derechos, título e interés cedido por el presente tan plena y completamente como si los mismos hubieren sido tenidos y poseídos por los Inventores y la Compañía Cedente si no se hubiese efectuado ésta Cesión.

2 Por el presente los Inventores OTORGAN a la firma Mewburn Ellis LLP poder para anotar en el Anexo de esta Cesión cualquier identificación adicional de cualquier solicitud de patente de cualquier país o región del mundo que esté comprendida dentro del alcance de la cláusula 1 anterior, según sea necesario o conveniente para dar cumplimiento a las normas de cualquier Oficina de Patentes para la inscripción de este documento. Se entiende y acuerda que los apoderados del Cesionario, la firma Mewburn Ellis LLP, han representado únicamente al Cesionario y continuarán representado exclusivamente al Cesionario con respecto a la Invención.

Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

14

3 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente ACUERDAN que a petición y por cuenta del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios efectuarán prontamente en todo momento a partir del presente todas aquellas acciones y suscribirán todos aquellos documentos (incluyendo, más no limitado a, documentos que requieran ser firmados por o a nombre de los inventores en el trámite de cualquier y todas las solicitudes canadienses o estadounidenses relacionadas con la Invención y en cualquier y de todas las divisionales, de continuación y continuaciones en parte de cualquiera de dichas solicitudes) según sea razonablemente necesario o conveniente para asegurar que sean investidos en el Cesionario o en sus sucesores o cesionarios todos los derechos, título e interés cedido al Cesionario por el presente y para confirmar el título del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios en todos los mencionados derechos, título e interés y para colaborar en la solución de cualquier cuestión relativa a la Invención o cualquier solicitud de patente o de protección de propiedad intelectual para la Invención o cualquier protección de propiedad intelectual otorgada de conformidad con cualquiera de dichas solicitudes.

4 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente les solicitan a las autoridades competentes en todos los países del mundo que expidan todas las patentes otorgadas para la Invención a nombre del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios de conformidad con esta cesión.

5 Esta cesión y acuerdo será obligante para los herederos, albaceas testamentarios, administradores, sucesores y/o cesionarios de los Inventores y redundará en beneficio de cualquier heredero, albacea testamentario, sucesores y/o cesionarios del Cesionario.

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL

15

EN TESTIMONIO DE LO CUAL las partes del presente han suscrito esta cesión y acuerdo

ANEXO

La Solicitud Prioritaria

PAÍS	SOLICITUD NO.	FECHA PRESENTACIÓN
Estados Unidos	60/829,694	17 octubre de 2006

ANEXO

PAÍS	SOLICITUD NO.	FECHA PRESENTACIÓN
PCT	PCT/GB2007/003888	15 octubre de 2007
Estados Unidos	11/873671	17 octubre de 2007
AR	P070104583	16 octubre de 2007
CL	2007-2967	16 octubre de 2007
PK	-	25 septiembre de 2007
PE	01394.2007	16 octubre de 2007
SA	07280551	20 octubre de 2007
TW	09138353	12 octubre de 2007
TH	0701005190	15 octubre de 2007
UY	30.639	12 octubre de 2007
VE	02222-2007	11 octubre de 2007

FIRMADO por)
KEITH ALLAN MENEAR)
el: 14/1/2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: Roger James Watson
Dirección: York House
22 Kingsway
Londres WC2B 6HP


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

FIRMADO por)

ANTHONY PETER OTTRIDGE)
el: 14 Ene 2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: Roger James Watson
Dirección: York House
22 Kingsway
Londres WC2B 6HP

FIRMADO por y a nombre de
KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED)
el: 26 Febrero 2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Testigo) Nombre: TRACEY BRYANT
Firma: Firma Ilegible Cargo: SOCIO COMERCIAL PATENTES
Nombre: TIMOTHY JOHN DOBSON ONCOLOGÍA + INFECCIÓN
Dirección: 130 BANK STREET
MACCLESFIELD
CHESHIRE SK11 7AY

Membrete Saville & Co.

A TODOS AQUELLOS A QUIENES LOS PRESENTES LLEGAREN YO, JAMES IAN VANNER, domiciliado en la ciudad de Londres, NOTARIO PÚBLICO por autoridad real debidamente admitido y juramentado POR EL PRESENTE CERTIFICO que la copia fotográfica adjunta a la presente es una copia fiel del original de la **cesión de invención y de derechos conexos de propiedad intelectual** de la cual representa una copia, yo después de haber confrontado y comparado minuciosamente la mencionada copia con dicho original he encontrado que esta es correspondiente.

EN FE Y TESTIMONIO DE LO CUAL, yo el susodicho notario he suscrito mi nombre y fijado mi sello de oficio en Londres hoy veinte de marzo de dos mil nueve.

Firma Ilegible

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA 6

17

APOSTILLA

(Convención de La Haya de Octubre 5 de 1961/ Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

Este documento público/ Le présent acte public

2. Ha sido firmado por James Ian Vanner
a été signé par

3. Actuando en calidad de Notario Público
agissant en qualité de

4. lleva el sello/estampilla de El susodicho Notario Público
est revêtu du sceau/timbre de

Certificado/Attesté

5. en Londres/ à Londres 6. El/le 23 de marzo de 2009
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para los Asuntos
Extranjeros y de la Comunidad /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté Britannique aux Affaires
Etrangères et du Commonwealth
8. Número/ sous No. I099894
9. Estampilla: 10. Firma: C Prendergast

timbre:



Imagen Obtenida por Escáner

Firma Ilegible

Por el Secretario de Estado /Pour le Secrétaire d'Etat

Si este documento va a ser presentado en un país que no sea miembro de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, deberá ser presentado a la sección consular de la misión que representa a dicho país. La Apostilla o certificado de legalización solo confirma la autenticidad de la firma, sello o estampilla en el documento. No significa que el contenido del documento sea cierto o que la Oficina de Relaciones Extranjeras y de la Comunidad haya aprobado su contenido.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ\DVZ\ID-148900\WPCL002H\COLO 14917-841-001-0

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
JEFES DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.
2009 ABR 30 A 10:36
9071752
NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
CUMPLIMIENTO DE LA LEY
DOCUMENTO DESEMPLEA
AS-FUNCIONES INDICADAS
Diego F. Vargas

DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

SAVILLE & CO

NOTARIES

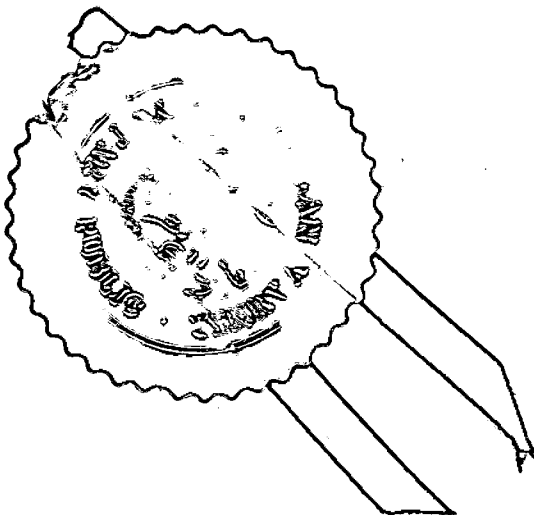
One Carey Lane
London EC2V 8AE
Telephone: +44 (0)20 7920 0000
Facsimile: +44 (0)20 7920 0088
www.savillenotaries.com
mail@savillenotaries.com

Richard Saville
Ian Campbell
Sophie Milburn
Nicholas Thompson



TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME, I
JAMES IAN VANNER of the City of London
NOTARY PUBLIC by royal authority duly admitted and sworn
DO HEREBY CERTIFY that the photographic copy hereunto
annexed is a true copy of the original **assignment of invention
and related intellectual property rights** of which it purports
to be a copy, I having carefully collated and compared the said
copy with the said original and found the same to agree
therewith.

IN FAITH AND TESTIMONY WHEREOF I the said notary
have subscribed my name and set and affixed my seal of office
at London aforesaid this twentieth day of March two thousand
and nine.



40

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 **James Ian Vanner**
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. the/le **23 March 2009**
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 **I099893**

9. Stamp:
timbre:

10. Signature: **C Prendergast**



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

Kunos 38 19

**ASSIGNMENT OF INVENTION
AND RELATED INTELLECTUAL PROPERTY RIGHTS**

Parties:

1 'The Inventors':

DEREK JOHN LONDESBROUGH

of Onyx Scientific Limited, Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland, SR5 2TQ,
United Kingdom

MICHAEL RAYMOND HALLETT

of Onyx Scientific Limited, Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland, SR5 2TQ,
United Kingdom

2 'The Assignor Company':

ONYX SCIENTIFIC LIMITED

of Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland, SR5 2TQ, United Kingdom

3 'The Assignee':

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

of 15 Stanhope Gate, London, W1K 1LN, United Kingdom

Recitals:

A) The Inventors are joint inventors with others of the invention or inventions entitled Phthalazinone Derivatives ("the Invention") for which the United States Patent Application ("The Priority Application") and the patent applications claiming priority from the Priority Application ("the International Applications") set forth in the schedule hereto have been filed

(B) The Inventors are employees of the Assignor Company and by the terms of their employment and the operation of the UK Patents Act 1977 any rights which they would otherwise own in the Invention are the property of the Assignor Company

(C) Pursuant to a Letter Agreement made between the Assignor Company and the Assignee made as of 14 June 2006 ("the Agreement") the Assignor Company has agreed that all of its rights in the Invention would be assigned to the Assignor and in pursuance of the Agreement and to facilitate the prosecution of the International Applications the Inventors and the Assignor Company have agreed to this assignment

Operative provisions:

In consideration for the payment of £1.00 and other valuable consideration to the Inventors and the Assignor Company the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged by the Inventor and the Assignor Company:

1 The Inventors and each of them hereby sell and assign to the Assignor Company, which accepts, and the Assignor Company hereby further sells and assigns to the Assignee, which accepts, absolutely and free from incumbrances:

1.1 all their respective rights title and interest in Canada and the United States and all other countries of the world in to and under the Invention and the International Applications and all national and regional phases thereof and any and all divisionals, continuations and continuations-in-part of any of the aforesaid applications and any and all patents that may be granted pursuant thereto for the full period thereof including any re-issues, re-examinations, renewals, extensions and Supplementary Protection Certificates and including all rights and powers arising or accrued therefrom including the right to sue for damages and other remedies in respect of any infringement of any such rights before on or after the date hereof and to retain any damages obtained as a result of such action;

1.2 all such rights as they may have to apply for prosecute and obtain patents and other intellectual property protection anywhere in the world in respect of the Invention to the intent that the grant of any patents or other intellectual property protection for the Invention shall be in the name of and shall vest in the Assignee or its successors or assigns;

1.3 all such rights as they may have to claim priority from all patent applications (if any) from which priority is claimed in the International Applications in any and all applications for patent protection for the Invention, such rights to be enjoyed by the Assignee with effect from the date of filing of the International Applications;

to the intent that the Assignee shall have and hold the rights title and interest hereby assigned as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by the Inventors and the Assignor Company had this assignment not been made.

2 The Inventors and the Assignor Company hereby GRANT the firm of Mewburn Ellis LLP the power to insert in the Schedule to this Assignment any further identification of any patent applications in Canada or the United States or any other countries or regions of the world which fall within the scope of clause 1 above, as may be necessary or desirable in order to comply with the rules of the United States Patent Office or the Canadian Patent Office or any other Patent Office for recordation of this document. It is understood and agreed that the Assignee's attorneys Mewburn Ellis LLP have represented only the Assignee and will continue to represent only the Assignee with respect to this invention.

3 The Inventors and the Assignor Company hereby UNDERTAKE that at the request and cost of the Assignee or its successors or assigns they will at all times hereafter promptly do all such acts and execute all such documents (including but not limited to documents required to be signed by or on behalf of inventors in the course of any and all Canadian and United States patent applications which relate to the Invention and any and all divisionals, continuations and continuations-in-part of any such applications) as may be reasonably necessary or desirable to secure the vesting in the Assignee or its successors or assigns of all rights title and interest assigned to the Assignee hereunder and to confirm the title of the Assignee or its successors or assigns to all such rights title and interest and to assist in the resolution of any question concerning the Invention or any application for patent or other intellectual property protection for the Invention or any intellectual property protection granted pursuant to any such application.

4 The Inventors and the Assignor Company hereby request the relevant authorities in all countries of the world to issue any patents granted for the Invention in the name of the Assignee or its successors or assigns in accordance with this assignment.

5 This assignment and undertaking shall be binding upon the heirs, executors, administrators, successors and/or assigns of the Inventors and the Assignor Company and shall enure to the benefit of any heirs, executors, administrators, successors and/or assigns of the Assignee.

IN WITNESS WHEREOF the parties have executed this assignment.

SCHEDULE

COUNTRY	APPLN No.	FILING DATE
US	60/829,694	17 October 2006
PCT	PCT/GB2007/003888	15 October 2007
US	11/873671	17 October 2007
AR	P070104583	16 October 2007
CL	2007-2967	16 October 2007
PK	-	25 September 2007
PE	01394.2007	16 October 2007
SA	07280551	20 October 2007
TW	09138353	12 October 2007
TH	0701005190	15 October 2007
UY	30.639	12 October 2007
VE	02222-2007	11 October 2007

SIGNED by)

DEREK JOHN LONDESBROUGH)

on: 21/1/08)

in the presence of NA)

Signature: (Witness)

Name: NATHAN ANE

Address: WESTMOOR
NEWCASTLE UPON TYNE

) Signature: D. Condliffe

SIGNED by)

MICHAEL RAYMOND HALLETT)

on: 21/1/08)

in the presence of:)

Signature: (Witness)

Name: NATHAN ANE

Address: WESTMOOR
NEWCASTLE UPON TYNE.

) Signature: M. Hallett

SIGNED for and on behalf of)

ONYX SCIENTIFIC LIMITED)

on: 22/1/08)

in the presence of:)

Witness)

Signature:)

Name: NATHAN ANE

Address: WESTMOOR
NEWCASTLE UPON TYNE

) Signature: A. An

) Name:

Position:

SIGNED for and on behalf of)
KUDOS PHARMACEUTICALS)
LIMITED)

on: 26 FEBRUARY 2008)

in the presence of:)

Witness

Signature: T. J. Dobson

Name: TIMOTHY JOHN DOBSON

Address: 130 BANK STREET

MACCLESFIELD

CHESHIRE

SK11 7AY

) Signature: [Signature]

) Name: TRACEY BRYANT

Position: PATENT BUSINESS PARTNER
ONCOLOGY + INFECTION

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 04.29/09e realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

CESIÓN DE INVENCION

Y DE DERECHOS CONEXOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Partes:

1 "Los Cedentes"

DERECK JOHN LONDESBROUGH

domiciliado en Onyx Scientific Limited, Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland, SR5 2TQ, Reino Unido

MICHAEL RAYMOND HALLET

domiciliado en Onyx Scientific Limited, Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland, SR5 2TQ, Reino Unido

2 "La Compañía Cedente"

ONYX SCIENTIFIC LIMITED

domiciliada en Silverbriar, Enterprise Park East, Sunderland, SR5 2TQ, Reino Unido

3 "El Cesionario"

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

domiciliado en 15 Stanhope Gate, Londres, W1K 1LN, Reino Unido

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

Considerando:

(A) Que los Cedentes son los inventores conjuntamente con otros de la invención o invenciones tituladas Derivados de Ftalazinona ("la Invención") para la cual se ha presentado la solicitud de patente de los Estados Unidos ("la Solicitud Prioritaria") y las solicitudes de patente que reivindican prioridad en la Solicitud Prioritaria ("las Solicitudes Internacionales") relacionadas en el anexo al presente

(B) Los inventores son empleados de la Compañía Cedente y de acuerdo a los términos de su empleo y la operación de la Ley de Patentes del Reino Unido de 1977 todos los derechos que ellos tengan en la Invención son propiedad de la Compañía Cedente.

(C) Por medio de un acuerdo realizado entre la Compañía Cedente y el Cesionario titulado "Acuerdo de Servicios de Investigación y Desarrollo" celebrado el 14 de junio de 2006 ("el Acuerdo") la Compañía Cedente acordó que todos sus derechos en la Invención serían cedidos al Cesionario y de conformidad con el Acuerdo así como para facilitar el trámite de las solicitudes internacionales, los Inventores y la Compañía Cedente han acordado realizar esta cesión.

Disposiciones operativas:

En contraprestación por el pago de \$1.00 libra esterlina y de otras contraprestaciones válidas a los Inventores y a la Compañía Cedente el recibo y suficiencia de las cuales por el presente reconocen los Inventores y la Compañía Cedente:

1 Los Inventores conjuntamente y cada uno de ellos individualmente por el presente venden y ceden a la Compañía Cedente, la cual acepta, y la Compañía Cedente adicionalmente por el presente vende y cede al Cesionario, el cual acepta, completa y enteramente sin gravámenes:

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. COPI DE ENERO 4 DE 1997

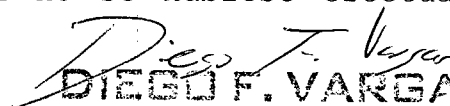
1.1 todos sus respectivos derechos, título e interés en Canadá y en los Estados Unidos y en todos los demás países del mundo en, a y sobre la Invención y a las Solicitudes Internacionales así como todas las fases nacionales y regionales de las mismas y cualquier y todas las divisionales, continuaciones y continuaciones en parte de cualquiera de las anteriores solicitudes así como cada una y todas las patentes que les lleguen a ser otorgadas a las mismas durante

todo su término incluyendo nuevas publicaciones, nuevos exámenes, renovaciones, prórrogas y Certificados de Protección Complementaria e incluyendo todos los derechos y prerrogativas que surjan o se adquieran de las mismas, incluyendo el derecho a presentar demandas por daños y perjuicios y otros recursos relativos a cualquier infracción de dichos derechos con anterioridad o posterioridad a la fecha del presente y a conservar cualquier indemnización por daños y perjuicios que se obtenga como resultado de dichas acciones;

1.2 todos aquellos derechos que puedan tener para solicitar el trámite y obtención de patentes y de otra protección de propiedad intelectual en cualquier lugar del mundo con respecto a la Invención con el objeto de que cualquier patente o protección de propiedad intelectual para la Invención sea otorgada a nombre y sea investida en el Cesionario o sus sucesores o cesionarios;

1.3 todos aquellos derechos que puedan tener para reivindicar prioridad de todas las solicitudes de patente (si las hubiere) para las cuales se reivindique prioridad en las Solicitudes Internacionales en cualquier y todas las solicitudes de protección de patente para la Invención, para que dichos derechos sean disfrutados por el Cesionario con vigencia a partir de la fecha de presentación de las Solicitudes Internacionales;

con el objeto de que el Cesionario tenga y posea los derechos, título e interés cedido por el presente tan plena y completamente como si los mismos hubieren sido tenidos y poseídos por los Inventores y la Compañía Cedente si no se hubiese efectuado ésta Cesión.


DIEGO F. VARGAS Z.

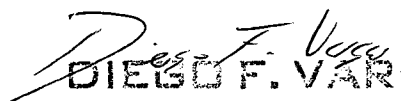
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL

2 Por el presente los Inventores y la Compañía Cedente ~~OTORGAN~~ a la firma Mewburn Ellis LLP poder para anotar en el Anexo de esta Cesión cualquier identificación adicional de cualquier solicitud de

27

patente en Canadá o en los Estados Unidos o en cualquier país o región del mundo que esté comprendida dentro del alcance de la cláusula 1 anterior, según sea necesario o conveniente para dar cumplimiento a las normas de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos o de la Oficina Canadiense de Patentes o de cualquier otra oficina de patentes para la inscripción de este documento. Se entiende y acuerda que los apoderados del Cesionario, la firma Mewburn Ellis LLP, han representado únicamente al Cesionario y continuarán representado exclusivamente al Cesionario con respecto a la Invención.

3 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente ACUERDAN que a petición y por cuenta del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios efectuarán prontamente en todo momento a partir del presente todas aquellas acciones y suscribirán todos aquellos documentos (incluyendo, más no limitado a, documentos que requieran ser firmados por o a nombre de los inventores en el trámite de cualquier y todas las solicitudes canadienses o estadounidenses relacionadas con la Invención y en cualquier y de todas las divisionales, de continuación y continuaciones en parte de cualquiera de dichas solicitudes) según sea razonablemente necesario o conveniente para asegurar que sean investidos en el Cesionario o en sus sucesores o cesionarios todos los derechos, título e interés cedido al Cesionario por el presente y para confirmar el título del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios en todos los mencionados derechos, título e interés y para colaborar en la solución de cualquier cuestión relativa a la Invención o cualquier solicitud de patente o de protección de propiedad intelectual para la Invención o cualquier protección de propiedad intelectual otorgada de conformidad con cualquiera de dichas solicitudes.


DIEGO F. VARGAS Z.

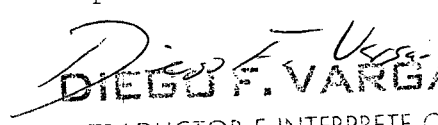
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

4 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente les solicitan a las autoridades competentes en todos los países del mundo que expidan todas las patentes otorgadas para la Invención a nombre del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios de conformidad con esta cesión.

5 Esta cesión y acuerdo será obligante para los herederos, albaceas testamentarios, administradores, sucesores y/o cesionarios de los Inventores y de la Compañía Cedente y redundará en beneficio de cualquier heredero, albacea testamentario, sucesores y/o cesionarios del Cesionario.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL las partes del presente han suscrito esta cesión y acuerdo


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

ANEXO

PAÍS	SOLICITUD NO.	FECHA PRESENTACIÓN
Estados Unidos	60/829,694	17 octubre de 2006
PCT	PCT/GB2007/003888	15 octubre de 2007
Estados Unidos	11/873671	17 octubre de 2007
AR	P070104583	16 octubre de 2007
CL	2007-2967	16 octubre de 2007
PK	-	25 septiembre de 2007
PE	01394.2007	16 octubre de 2007
SA	07280551	20 octubre de 2007
TW	09138353	12 octubre de 2007
TH	0701005190	15 octubre de 2007
UY	30.639	12 octubre de 2007
VE	02222-2007	11 octubre de 2007

FIRMADO por)
DEREK JOHN LONDESBROUGH)
el: 21/1/08)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: NATHAN ANE
Dirección: WESTMOORE
NEWCASTLE UPON TYNE

FIRMADO por)
MICHAEL RAYMOND HALLETT)
el: 21/1/08)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: NATHAN ANE
Dirección: WESTMOORE

FIRMADO por y a nombre de)
ONYX SCIENTIFIC LIMITED)
el: 22/1/08)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: NATHAN ANE
Dirección: WESTMOORE
NEWCASTLE UPON TYNE

FIRMADO por y a nombre de)
KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED)
el: 26 Febrero 2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Testigo) Nombre: TRACEY BRYANT
Firma: Firma Ilegible Cargo: SOCIO COMERCIAL PATENTES
Nombre: TIMOTHY JOHN DOBSON ONCOLOGÍA + INFECCIÓN
Dirección: 130 BANK STREET.
MACCLESFIELD
CHESHIRE SK11 7AY


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

Membrete Saville & Co.

A TODOS AQUELLOS A QUIENES LOS PRESENTES LLEGAREN YO, JAMES IAN VANNER, domiciliado en la ciudad de Londres, NOTARIO PÚBLICO por autoridad real debidamente admitido y juramentado POR EL PRESENTE CERTIFICO que la copia fotográfica adjunta a la presente es una copia fiel del original de la **cesión de invención y de derechos conexos de propiedad intelectual** de la cual representa una copia, yo después de haber confrontado y comparado minuciosamente la mencionada copia con dicho original he encontrado que esta es correspondiente.

EN FE Y TESTIMONIO DE LO CUAL, yo el susodicho notario he suscrito mi nombre y fijado mi sello de oficio en Londres hoy veinte de marzo de dos mil nueve.

Firma Ilegible

APOSTILLA

(Convención de La Haya de Octubre 5 de 1961/ Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

Este documento público/ Le présent acte public

2. Ha sido firmado por **James Ian Vanner**
a été signé par

3. Actuando en calidad de **Notario Público**
agissant en qualité de

4. lleva el sello/estampilla de **El susodicho Notario Público**
est revêtu du sceau/timbre de

Certificado/Attesté

5. en Londres/ à Londres 6. El/le **23 de marzo de 2009**
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Extranjeros y de la Comunidad /

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté Britannique aux Affaires
Etrangères et du Commonwealth

8. Número/ sous No. **I099893**

9. Estampilla: 10. Firma: **C Prendergast**
timbre:



Firma Ilegible

Por el Secretario de Estado /Pour le Secrétaire d'Etat

Imagen Obtenida por Escáner

Si este documento va a ser presentado en un país que no sea miembro de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, deberá ser presentado a la sección consular de la misión que representa a dicho país. La Apostilla o certificado de legalización solo confirma la autenticidad de la firma, sello o estampilla en el documento. No significa que el contenido del documento sea cierto o que la Oficina de Relaciones Extranjeras y de la Comunidad haya aprobado su contenido.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ\DVZ\ID-148901\WPCL002H\COLO 14917-841-001-0

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
907753
Diego Vargas
CUYA FIDELIDAD EN EL
DOCUMENTO DESPEÑA
AS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2009 ABR 30 A 10:36
Quino
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

SAVILLE & CO

NOTARIES

One Carey Lane
London EC2V 8AE
Telephone: +44 (0)20 7920 0000
Facsimile: +44 (0)20 7920 0088
www.savillenotaries.com
mail@savillenotaries.com

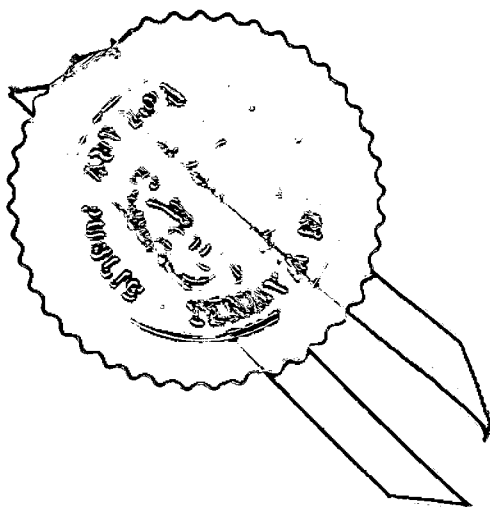
Richard Saville
Ian Campbell
Sophie Milburn
Nicholas Thompson



TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME, I
JAMES IAN VANNER of the City of London
NOTARY PUBLIC by royal authority duly admitted and sworn
DO HEREBY CERTIFY that the photographic copy hereunto
annexed is a true copy of the original **assignment of invention
and related intellectual property rights** of which it purports
to be a copy, I having carefully collated and compared the said
copy with the said original and found the same to agree
therewith.

IN FAITH AND TESTIMONY WHEREOF I the said notary
have subscribed my name and set and affixed my seal of office
at London aforesaid this twentieth day of March two thousand
and nine.



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 **James Ian Vanner**
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. the/le **23 March 2009**

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 **I099892**

9. Stamp:
timbre:

10. Signature: **C Prendergast**

*For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat*

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

33

**ASSIGNMENT OF INVENTION
AND RELATED INTELLECTUAL PROPERTY RIGHTS**

Parties:

1 'The Inventors':

KEITH RAYMOND MULHOLLAND

of AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

JOHN DAVID PITTAM

of AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

DAVID DERMOT PATRICK LAFFAN

of AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

IAN WOODWARD ASHWORTH

of AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

MARTIN FRANCIS JONES

of AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

JANETTE HELEN CHERRYMAN

of AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

2 'The Assignor Company':

ASTRAZENECA UK LIMITED

of Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, United Kingdom

3 'The Assignee':

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

of 15 Stanhope Gate, London, W1K 1LN, United Kingdom

Recitals:

A) The Inventors are joint inventors with others of the invention or inventions entitled Phthalazinone Derivatives ("the Invention") for which the United States Patent Application ("The Priority Application") and the patent applications claiming priority from the Priority Application ("the International Applications") set forth in the schedule hereto have been filed

(B) The Inventors are employees of the Assignor Company and by the terms of their employment and the operation of the UK Patents Act 1977 any rights which they would otherwise own in the Invention are the property of the Assignor Company

(C) By an agreement made between the Assignor Company and the Assignee entitled "Research and Development Services Agreement" made as of 1 June 2006 ("the Agreement") the Assignor Company agreed that all of its rights in the Invention would be assigned to the Assignor and in pursuance of the Agreement and to facilitate the prosecution of the International Applications the Inventors and the Assignor Company have agreed to this assignment

Operative provisions:

In consideration for the payment of £1.00 and other valuable consideration to the Inventors and the Assignor Company the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged by the Inventor and the Assignor Company:

1 The Inventors and each of them hereby sell and assign to the Assignor Company, which accepts, and the Assignor Company hereby further sells and assigns to the Assignee, which accepts, absolutely and free from incumbrances:

1.1 all their respective rights title and interest in Canada and the United States and all other countries of the world in to and under the Invention and the International Applications and all national and regional phases thereof and any and all divisionals, continuations and continuations-in-part of any of the aforesaid applications and any and all patents that may be granted pursuant thereto for the full period thereof including any re-issues, re-examinations, renewals, extensions and Supplementary Protection Certificates and including all rights and powers arising or accrued therefrom including the right to sue for damages and other remedies in respect of any infringement of any such rights before on or after the date hereof and to retain any damages obtained as a result of such action;

1.2 all such rights as they may have to apply for prosecute and obtain patents and other intellectual property protection anywhere in the world in respect of the Invention to the intent that the grant of any patents or other intellectual property protection for the Invention shall be in the name of and shall vest in the Assignee or its successors or assigns;

1.3 all such rights as they may have to claim priority from all patent applications (if any) from which priority is claimed in the International Applications in any and all applications for patent protection for the Invention, such rights to be enjoyed by the Assignee with effect from the date of filing of the International Applications;

to the intent that the Assignee shall have and hold the rights title and interest hereby assigned as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by the Inventors and the Assignor Company had this assignment not been made.

2 The Inventors and the Assignor Company hereby GRANT the firm of Mewburn Ellis LLP the power to insert in the Schedule to this Assignment any further identification of any patent applications in Canada or the United States or any other countries or regions of the world which fall within the scope of clause 1 above, as may be necessary or desirable in order to comply with the rules of the United States Patent Office or the Canadian Patent Office or any other Patent Office for recordation of this document. It is understood and agreed that the Assignee's attorneys Mewburn Ellis LLP have represented only the Assignee and will continue to represent only the Assignee with respect to this invention.

3 The Inventors and the Assignor Company hereby UNDERTAKE that at the request and cost of the Assignee or its successors or assigns they will at all times hereafter promptly do all such acts and execute all such documents (including but not limited to documents required to be signed by or on behalf of inventors in the course of any and all Canadian and United States patent applications which relate to the Invention and any and all divisionals, continuations and continuations-in-part of any such applications) as may be reasonably necessary or desirable to secure the vesting in the Assignee or its successors or assigns of all rights title and interest

35

assigned to the Assignee hereunder and to confirm the title of the Assignee or its successors or assigns to all such rights title and interest and to assist in the resolution of any question concerning the Invention or any application for patent or other intellectual property protection for the Invention or any intellectual property protection granted pursuant to any such application.

4 The Inventors and the Assignor Company hereby request the relevant authorities in all countries of the world to issue any patents granted for the Invention in the name of the Assignee or its successors or assigns in accordance with this assignment.

5 This assignment and undertaking shall be binding upon the heirs, executors, administrators, successors and/or assigns of the Inventors and the Assignor Company and shall enure to the benefit of any heirs, executors, administrators, successors and/or assigns of the Assignee.

IN WITNESS WHEREOF the parties have executed this assignment.

SCHEDULE

COUNTRY	APPLN No.	FILING DATE
US	60/829,694	17 October 2006
PCT	PCT/GB2007/003888	15 October 2007
US	11/873671	17 October 2007
AR	P070104583	16 October 2007
CL	2007-2967	16 October 2007
PK	-	25 September 2007
PE	01394.2007	16 October 2007
SA	07280551	20 October 2007
TW	09138353	12 October 2007
TH	0701005190	15 October 2007
UY	30.639	12 October 2007
VE	02222-2007	11 October 2007

SIGNED by)

KEITH RAYMOND MULHOLLAND)

on: 11th February 2008.....)

in the presence of:)

Signature: G Underwood (Witness)

Name: GAIL UNDERWOOD

Address: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE
STOCKPORT
SK6 7BX.

) Signature: K.R. Mulholland

SIGNED by

JOHN DAVID PITTAM

on: 11.2.08

in the presence of:

Signature: Gail Underwood (Witness)

Name: GAIL UNDERWOOD

Address: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT. SK6 7BX.

) Signature: 

SIGNED by

DAVID DERMOT PATRICK LAFFAN

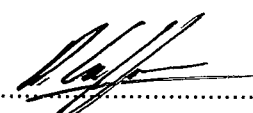
on: 14.2.08

in the presence of:

Signature: G. Underwood (Witness)

Name: GAIL UNDERWOOD

Address: 22 OLDKNOW RD
MARPLE, STOCKPORT SK6 7BX.

) Signature: 

SIGNED by

IAN WOODWARD ASHWORTH

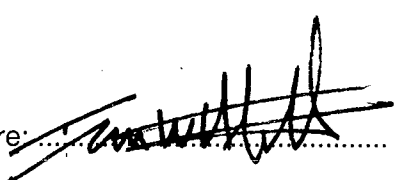
on: 14-02-2008.

in the presence of:

Signature: G. Underwood (Witness)

Name: GAIL UNDERWOOD

Address: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT SK6 7BX

) Signature: 

SIGNED by

MARTIN FRANCIS JONES

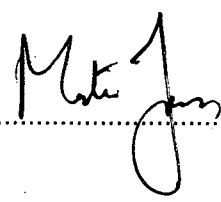
on: 19th Feb. 2008

in the presence of:

Signature: G. Underwood (Witness)

Name: GAIL UNDERWOOD

Address: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT
SK6 7BX.

) Signature: 

SIGNED by)

JANETTE HELEN CHERRYMAN)

on: 11-Feb-2008)

in the presence of:)

Signature: G. Underwood (Witness))

Name: GAIL UNDERWOOD

Address: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT. SK6 7BX.

) Signature: J. Cherryman

SIGNED for and on behalf of)

ASTRAZENECA UK LIMITED)

on: 27 Feb 2008)

in the presence of:)

Witness

Signature: R. Suttlecum)

Name: RACHEL SUTTLECUM

Address: BOLLINGTON LODGE,
NETHER ADELPH, CHEREHLE, SK10 4TD

) Signature: R. Sumner

) Name: RICHARD SUMNER

Position: PATENT DIRECTOR

SIGNED for and on behalf of)

KUDOS PHARMACEUTICALS)

LIMITED)

on: 26 FEBRUARY 2008)

in the presence of:)

Witness

Signature: T. J. Dobson)

Name: TIMOTHY JOHN DOBSON

Address: 130 BANK STREET

MACCLESFIELD

CHESTER SK11 7AY

) Signature: T. Bryant

) Name: TRACEY BRYANT

Position: PATENT BUSINESS PARTNER

ONCOLOGY + INFECTION

39-

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 04.29/09c realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

CESIÓN DE INVENCION

Y DE DERECHOS CONEXOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Partes:

1 "Los Cedentes"

KEITH RAYMOND MULHOLLAND

domiciliado en AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA,
Reino Unido

JOHN DAVID PITTAM

domiciliado en AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA,
Reino Unido

DAVID DERMONT PATRICK LAFFAN

domiciliado en AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA,
Reino Unido

IAN WOODWARD ASHWORTH

domiciliado en AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA,
Reino Unido

MARTIN FRANCIS JONES

domiciliado en AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA,
Reino Unido

JANETTE HELEN CHERRYMAN

domiciliado en AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA,
Reino Unido

2 "La Compañía Cedente"

ASTRAZENECA UK LIMITED

domiciliada en Charter Way, Macclesfield, SK10 2NA, Reino Unido

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

40

3 "El Cesionario"

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED

domiciliado en 15 Stanhope Gate, Londres, W1K 1LN, Reino Unido

Considerando:

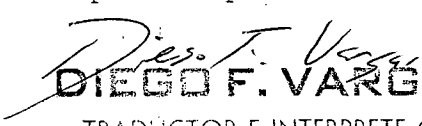
(A) Que los Cedentes son los inventores conjuntamente con otros de la invención o invenciones tituladas Derivados de Ftalazinona ("la Invención") para la cual se ha presentado la solicitud de patente de los Estados Unidos ("la Solicitud Prioritaria") y las solicitudes de patente que reivindican prioridad en la Solicitud Prioritaria ("las Solicitudes Internacionales") relacionadas en el anexo al presente

(B) Los inventores son empleados de la Compañía Cedente y de acuerdo a los términos de su empleo y la operación de la Ley de Patentes del Reino Unido de 1977 todos los derechos que ellos tengan en la Invención son propiedad de la Compañía Cedente.

(C) Por medio de un acuerdo realizado entre la Compañía Cedente y el Cesionario titulado "Acuerdo de Servicios de Investigación y Desarrollo" celebrado el 1 de junio de 2006 ("el Acuerdo") la Compañía Cedente acordó que todos sus derechos en la Invención serían cedidos al Cesionario y de conformidad con el Acuerdo así como para facilitar el trámite de las solicitudes internacionales, los Inventores y la Compañía Cedente han acordado realizar esta cesión.

Disposiciones operativas:

En contraprestación por el pago de \$1.00 libra esterlina y de otras contraprestaciones válidas a los Inventores y a la Compañía Cedente el recibo y suficiencia de las cuales por el presente reconocen los Inventores y la Compañía Cedente:


DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA

1 Los Inventores conjuntamente y cada uno de ellos individualmente por el presente venden y ceden a la Compañía Cedente, la cual acepta, y la Compañía Cedente adicionalmente por el presente vende y cede al Cesionario, el cual acepta, completa y enteramente sin gravámenes:

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL

1.1 todos sus respectivos derechos, título e interés en Canadá y en los Estados Unidos y en todos los demás países del mundo en, a y sobre la Invención y a las Solicitudes Internacionales así como todas las fases nacionales y regionales de las mismas y cualquier y todas las divisionales, continuaciones y continuaciones en parte de cualquiera de las anteriores solicitudes así como cada una y todas las patentes que les lleguen a ser otorgadas a las mismas durante todo su término incluyendo nuevas publicaciones, nuevos exámenes, renovaciones, prórrogas y Certificados de Protección Complementaria e incluyendo todos los derechos y prerrogativas que surjan o se adquieran de las mismas, incluyendo el derecho a presentar demandas por daños y perjuicios y otros recursos relativos a cualquier infracción de dichos derechos con anterioridad o posterioridad a la fecha del presente y a conservar cualquier indemnización por daños y perjuicios que se obtenga como resultado de dichas acciones;

1.2 todos aquellos derechos que puedan tener para solicitar el trámite y obtención de patentes y de otra protección de propiedad intelectual en cualquier lugar del mundo con respecto a la Invención con el objeto de que cualquier patente o protección de propiedad intelectual para la Invención sea otorgada a nombre y sea investida en el Cesionario o sus sucesores o cesionarios;

1.3 todos aquellos derechos que puedan tener para reivindicar prioridad de todas las solicitudes de patente (si las hubiere) para las cuales se reivindique prioridad en las Solicitudes

Internacionales en cualquier y todas las solicitudes de protección de patente para la Invención, para que dichos derechos sean disfrutados por el Cesionario con vigencia a partir de la fecha de presentación de las Solicitudes Internacionales;

con el objeto de que el Cesionario tenga y posea los derechos, título e interés cedido por el presente tan plena y completamente como si los mismos hubieren sido tenidos y poseídos por los Inventores y la Compañía Cedente si no se hubiese efectuado ésta Cesión.

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL

ESPAÑOL-INGLÉS - INGLÉS-ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

2 Por el presente los Inventores y la Compañía Cedente ^{OTORGAN} a la firma Mewburn Ellis LLP poder para anotar en ^{ANEXOS} esta Cesión cualquier identificación adicional de cualquier solicitud de patente en Canadá o en los Estados Unidos o en cualquier país o región del mundo que esté comprendida dentro del alcance de la cláusula 1 anterior, según sea necesario o conveniente para dar cumplimiento a las normas de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos o de la Oficina Canadiense de Patentes o de cualquier otra oficina de patentes para la inscripción de este documento. Se entiende y acuerda que los apoderados del Cesionario, la firma Mewburn Ellis LLP, han representado únicamente al Cesionario y continuarán representado exclusivamente al Cesionario con respecto a la Invención.

3 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente ACUERDAN que a petición y por cuenta del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios efectuarán prontamente en todo momento a partir del presente todas aquellas acciones y suscribirán todos aquellos documentos (incluyendo, más no limitado a, documentos que requieran ser firmados por o a nombre de los inventores en el trámite de cualquier y todas las solicitudes canadienses o estadounidenses

relacionadas con la Invención y en cualquier y de todas las divisionales, de continuación y continuaciones en parte de cualquiera de dichas solicitudes) según sea razonablemente necesario o conveniente para asegurar que sean investidos en el Cesionario o en sus sucesores o cesionarios todos los derechos, título e interés cedido al Cesionario por el presente y para confirmar el título del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios en todos los mencionados derechos, título e interés y para colaborar en la solución de cualquier cuestión relativa a la Invención o cualquier solicitud de patente o de protección de propiedad intelectual para la Invención o cualquier protección de propiedad intelectual otorgada de conformidad con cualquiera de dichas solicitudes.

4 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente les solicitan a las autoridades competentes en todos los países del mundo que expidan todas las patentes otorgadas para la Invención a nombre del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios de conformidad con esta cesión.

5 Esta cesión y acuerdo será obligante para los herederos, albaceas testamentarios, administradores, sucesores y/o cesionarios de los Inventores y de la Compañía Cedente y redundará en beneficio de cualquier heredero, albacea testamentario, sucesores y/o cesionarios del Cesionario.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL las partes del presente han suscrito esta cesión y acuerdo


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

relacionadas con la Invención y en cualquier y de todas las divisionales, de continuación y continuaciones en parte de cualquiera de dichas solicitudes) según sea razonablemente necesario o conveniente para asegurar que sean investidos en el Cesionario o en sus sucesores o cesionarios todos los derechos, título e interés cedido al Cesionario por el presente y para confirmar el título del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios en todos los mencionados derechos, título e interés y para colaborar en la solución de cualquier cuestión relativa a la Invención o cualquier solicitud de patente o de protección de propiedad intelectual para la Invención o cualquier protección de propiedad intelectual otorgada de conformidad con cualquiera de dichas solicitudes.

4 Los Inventores y la Compañía Cedente por el presente les solicitan a las autoridades competentes en todos los países del mundo que expidan todas las patentes otorgadas para la Invención a nombre del Cesionario o de sus sucesores o cesionarios de conformidad con esta cesión.

5 Esta cesión y acuerdo será obligante para los herederos, albaceas testamentarios, administradores, sucesores y/o cesionarios de los Inventores y de la Compañía Cedente y redundará en beneficio de cualquier heredero, albacea testamentario, sucesores y/o cesionarios del Cesionario.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL las partes del presente han suscrito esta cesión y acuerdo


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

ANEXO

PAÍS	SOLICITUD NO.	FECHA PRESENTACIÓN
Estados Unidos	60/829,694	17 octubre de 2006
PCT	PCT/GB2007/003888	15 octubre de 2007
Estados Unidos	11/873671	17 octubre de 2007
AR	P070104583	16 octubre de 2007
CL	2007-2967	16 octubre de 2007
PK	-	25 septiembre de 2007
PE	01394.2007	16 octubre de 2007
SA	07280551	20 octubre de 2007
TW	09138353	12 octubre de 2007
TH	0701005190	15 octubre de 2007
UY	30.639	12 octubre de 2007
VE	02222-2007	11 octubre de 2007

FIRMADO por)
KEITH RAYMOND MULHOLLAND)
el: 11 febrero de 2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: **GAIL UNDERWOOD**
Dirección: **22 OLDKNOW ROAD**

MARPLE
STOCKPORT
SK6 7BX


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

FIRMADO por)
JOHN DAVID PITTAM)
el: 11.2.08)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: **GAIL UNDERWOOD**
Dirección: **22 OLDKNOW ROAD**
MARPLE, STOCKPORT, SK6 7BX

FIRMADO por)
DAVID DERMOT PATRICK LAFFAN)
el: 14.2.08)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: GAIL UNDERWOOD
Dirección: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT, SK6 7BX

FIRMADO por)
IAN WOODWARTH ASHWORTH)
el: 14-02-2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: GAIL UNDERWOOD
Dirección: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT, SK6 7BX

FIRMADO por)
MARTIN FRANCIS JONES)
el: 19 Feb. 2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: GAIL UNDERWOOD
Dirección: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT, SK6 7BX

FIRMADO por)
JANETTE HELEN CHERRYMAN)
el: 11- Feb - 2008)
en presencia de:) Firma: Firma Ilegible
Firma: Firma Ilegible (Testigo)
Nombre: GAIL UNDERWOOD
Dirección: 22 OLDKNOW ROAD
MARPLE, STOCKPORT, SK6 7BX


DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

FIRMADO por y a nombre de

ASTRAZENECA UK LIMITED)

el: 27 Febrero 2008)

en presencia de:)

Testigo)

Firma: Firma Ilegible)

Nombre: RACHEL SWTTLEVAW

Dirección: BOLLINGTON LODGE

ILEGIBLE

Firma: Firma Ilegible

Nombre: RICHARD SUMMERSEN

Cargo: DIRECTOR DE PATENTES

FIRMADO por y a nombre de

KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED)

el: 26 Febrero 2008)

en presencia de:)

Testigo)

Firma: Firma Ilegible)

Nombre: TIMOTHY JOHN DOBSON

Dirección: 130 BANK STREET

MACCLESFIELD

CHESHIRE SK11 7AY

Firma: Firma Ilegible

Nombre: TRACEY BRYANT

Cargo: SOCIO COMERCIAL PATENTES

ONCOLOGÍA + INFECCIÓN

Membrete Saville & Co.

A TODOS AQUELLOS A QUIENES LOS PRESENTES LLEGAREN YO, JAMES IAN VANNER, domiciliado en la ciudad de Londres, NOTARIO PÚBLICO por autoridad real debidamente admitido y juramentado POR EL PRESENTE CERTIFICO que la copia fotográfica adjunta a la presente es una copia fiel del original de la **cesión de invención y de derechos conexos de propiedad intelectual** de la cual representa una copia, yo después de haber confrontado y comparado minuciosamente la mencionada copia con dicho original he encontrado que esta es correspondiente.

EN FE Y TESTIMONIO DE LO CUAL, yo el susodicho notario he suscrito mi nombre y fijado mi sello de oficio en Londres hoy veinte de marzo de dos mil nueve.

Firma Ilegible

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

APOSTILLA

(Convención de La Haya de Octubre 5 de 1961/ Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

Este documento público/ Le présent acte public

2. Ha sido firmado por **James Ian Vanner**
a été signé par

3. Actuando en calidad de **Notario Público**
agissant en qualité de

4. lleva el sello/estampilla de **El susodicho Notario Público**
est revêtu du sceau/timbre de

Certificado/Attesté

5. en Londres/ à Londres

6. El/le **23 de marzo de 2009**

7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Extranjeros y de la Comunidad /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté Britannique aux Affaires Etrangères et du Commonwealth

8. Número/ sous No. **I099892**

9. Estampilla:
timbre:

10. Firma: **C Prendergast**



Imagen Obtenida por Escáner

Firma Ilegible

Por el Secretario de Estado /Pour le Secrétaire d'Etat

Si este documento va a ser presentado en un país que no sea miembro de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, deberá ser presentado a la sección consular de la misión que representa a dicho país. La Apostilla o certificado de legalización solo confirma la autenticidad de la firma, sello o estampilla en el documento. No significa que el contenido del documento sea cierto o que la Oficina de Relaciones Extranjeras y de la Comunidad haya aprobado su contenido.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ\DVZ\ID-148566\WPCL002H\COLO 14917-841-001-0

DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
24 April 2008 (24.04.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/047082 A3

(51) International Patent Classification:

C07D 237/32 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/502 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/GB2007/003888

(22) International Filing Date: 15 October 2007 (15.10.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/829,694 17 October 2006 (17.10.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): KUDOS
PHARMACEUTICALS LIMITED [GB/GB]; 15 Stan-
hope Gate, London Greater London W1K 1LN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): MENEAR, Keith,
Allan [GB/GB]; Kudos Pharmaceuticals Limited, 410
Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge Cam-
bridgeshire CB4 0PE (GB). OTTRIDGE, Anthony,
Peter [GB/GB]; Kudos Pharmaceuticals Limited, 410
Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge Cam-
bridgeshire CB4 0PE (GB). LONDESBROUGH, Derek,
John [GB/GB]; Onyx Scientific Limited, Silverbriar,
Enterprise Park East, Sunderland Tyne And Wear SR5
2TQ (GB). HALLETT, Michael, Raymond [GB/GB];
Onyx Scientific Limited, Silverbriar, Enterprise Park East,
Sunderland Tyne And Wear SR5 2TQ (GB). MULLHOL-
LAND, Keith, Raymond [GB/GB]; AstraZeneca, Charter
Way, Macclesfield Cheshire SK10 2NA (GB). PITTAM,
John, David [GB/GB]; AstraZeneca, Charter Way, Mac-
clesfield Cheshire SK10 2NA (GB). LAFFAN, David,
Dermot, Patrick [GB/GB]; AstraZeneca, Charter Way,
Macclesfield Cheshire SK10 2NA (GB). ASHWORTH,

Ian, Woodward [GB/GB]; AstraZeneca, Charter Way,
Macclesfield Cheshire SK10 2NA (GB). JONES, Martin,
Francis [GB/GB]; AstraZeneca, Charter Way, Maccles-
field Cheshire SK10 2NA (GB). CHERRYMAN, Janette,
Helen [GB/GB]; AstraZeneca, Charter Way, Macclesfield
Cheshire SK10 2NA (GB).

(74) Agents: WATSON, Robert et al.; Mewburn Ellis LLP,
York House, 23 Kingsway, London Greater London WC2B
6HP (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
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, JS, 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, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(88) Date of publication of the international search report:
25 September 2008

(54) Title: POLYMORPHIC FORM OF 4-[3-(4-CYCLOPROPANECARBONYL-PIPERAZINE-1-CARBONYL)-4-FLUORO-
BENZYL]-2H-PHTHALAZIN-1-ONE

(57) Abstract: 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one as crystalline Form A.

WO 2008/047082 A3

Phthalazinone Derivative

The present invention relates to a crystalline form and improved methods of synthesis of a particular phthalazinone derivative, intermediates in the synthesis and pharmaceutical compositions and uses of the crystalline form.

The mammalian enzyme PARP (a 113-kDa multidomain protein) has been implicated in the signalling of DNA damage through its ability to recognize and rapidly bind to DNA single or double strand breaks (D'Amours, *et al.*, *Biochem. J.*, **342**, 249-268 (1999)).

Several observations have led to the conclusion that PARP participates in a variety of DNA-related functions including gene amplification, cell division, differentiation, apoptosis, DNA base excision repair and also effects on telomere length and chromosome stability (d'Adda di Fagagna, *et al.*, *Nature Gen.*, **23**(1), 76-80 (1999)).

Studies on the mechanism by which PARP modulates DNA repair and other processes has identified its importance in the formation of poly (ADP-ribose) chains within the cellular nucleus (Althaus, F.R. and Richter, C., *ADP-Ribosylation of Proteins: Enzymology and Biological Significance*, Springer-Verlag, Berlin (1987)). The DNA-bound, activated PARP utilizes NAD to synthesize poly (ADP-ribose) on a variety of nuclear target proteins, including topoisomerase, histones and PARP itself (Rhun, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**, 1-10 (1998))

Poly (ADP-ribosyl)ation has also been associated with malignant transformation. For example, PARP activity is higher in the isolated nuclei of SV40-transformed fibroblasts, while both leukemic cells and colon cancer cells show higher enzyme activity than the equivalent normal leukocytes and colon mucosa (Miwa, *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, **181**, 313-321 (1977); Burzio, *et al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **149**, 933-938 (1975); and Hirai, *et al.*, *Cancer Res.*, **43**, 3441-3446 (1983)).

A number of low-molecular-weight inhibitors of PARP have been used to elucidate the functional role of poly (ADP-ribosyl)ation in DNA repair. In cells treated with alkylating agents, the inhibition of PARP leads to a marked increase in DNA-strand breakage and cell killing (Durkacz, *et al.*, *Nature*, **283**, 593-596 (1980); Berger, N.A., *Radiation Research*, **101**, 4-14 (1985)).

Subsequently, such inhibitors have been shown to enhance the effects of radiation response by suppressing the repair of potentially lethal damage (Ben-Hur, *et al.*, *British Journal of Cancer*, **49** (Suppl. VI), 34-42 (1984); Schlicker, *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.*, **75**, 91-100 (1999)). PARP inhibitors have been reported to be effective in radio sensitising hypoxic tumour cells (US 5,032,617; US 5,215,738 and US 5,041,653).

Furthermore, PARP knockout (PARP *-/-*) animals exhibit genomic instability in response to alkylating agents and γ -irradiation (Wang, *et al.*, *Genes Dev.*, **9**, 509-520 (1995); Menissier de Murcia, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 7303-7307 (1997)).

A role for PARP has also been demonstrated in certain vascular diseases, septic shock, ischaemic injury and neurotoxicity (Cantoni, *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1014**, 1-7 (1989); Szabo, *et al.*, *J. Clin. Invest.*, **100**, 723-735 (1997)). Oxygen radical DNA damage that leads to strand breaks in DNA, which are subsequently recognised by PARP, is a major contributing factor to such disease states as shown by PARP inhibitor studies (Cosi, *et al.*, *J. Neurosci. Res.*, **39**, 38-46 (1994); Said, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**, 4688-4692 (1996)). More recently, PARP has been demonstrated to play a role in the pathogenesis of haemorrhagic shock (Liaudet, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**(3), 10203-10208 (2000)).

It has also been demonstrated that efficient retroviral infection of mammalian cells is blocked by the inhibition of PARP activity. Such inhibition of recombinant retroviral vector infections was shown to occur in various different cell types (Gaken, *et al.*, *J. Virology*, **70**(6), 3992-4000 (1996)). Inhibitors of PARP have thus been developed for the use in anti-viral therapies and in cancer treatment (WO 91/18591).

Moreover, PARP inhibition has been speculated to delay the onset of aging characteristics in human fibroblasts (Rattan and Clark, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **201**(2), 665-672 (1994)). This may be related to the role that PARP plays in controlling telomere function (d'Adda di Fagagna, *et al.*, *Nature Gen.*, **23**(1), 76-80 (1999)).

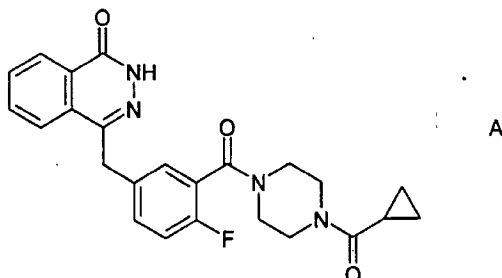
WO 2004/080976 discloses a number of phthalazinone derivatives, their activity in inhibiting PARP, and their consequential use in treating cancer, whether as an adjunct to radiotherapy or chemotherapy, or as a stand alone agent.

WO 2005/053662 describes the use of PARP inhibitors, in particular phthalazinone derivatives, as base excision repair (BER) inhibitors. The use of these inhibitors in the manufacture of

3

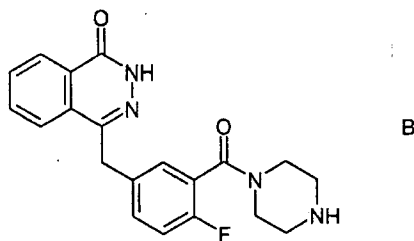
medicaments for the treatment of cancers which are deficient in Homologous Recombination (HR) dependent DNA DSB repair activity, in particular for cancers which have a BRCA1 and/or a BRCA2 deficient phenotype, is described.

- 5 4-[3-(4-Cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound A) disclosed in WO 2004/080976:

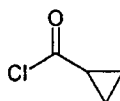


is of particular interest.

- 10 In WO 2004/080976, compound A was synthesised as one of a number of library compounds from 4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound B):



by the addition of cyclopropanecarbonyl chloride:

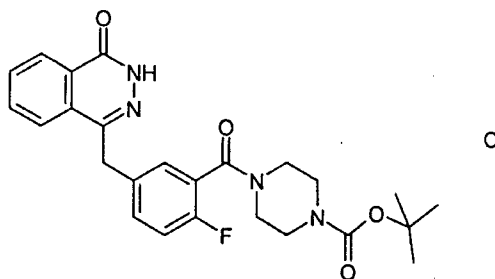


- 15 to a solution of (B) in dichloromethane, followed by Hünig's base (N,N-diisopropylethyl amine). This reaction is carried out with stirring at room temperature for 16 hours, and the resulting compound being purified by preparative HPLC.

- 20 The piperazine derivative (B) was prepared by deprotecting 4-[2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoyl]-piperazine-1-carboxylic acid tert-butyl ester (compound C):

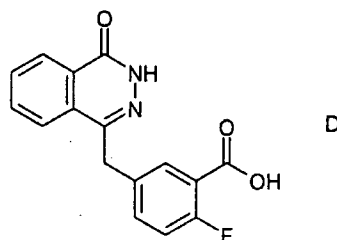
51

4

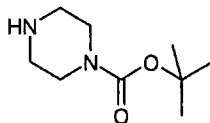


by the use of 6M HCl and ethanol for 1 hour, followed by basification with ammonia to pH 9, and extraction into dichloromethane.

- 5 The Boc-protected piperazine derivative (C) was prepared from 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid (compound D):



by the addition of piperazine-1-carboxylic acid tert-butyl ester:



- 10 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU) and N,N,-diisopropylethylamine in dimethylacetamide, followed by stirring for 18 hours.

Particular forms of compound A may have advantageous properties, for example with regard to their solubility and/or their stability and/or their bioavailability and/or their impurity profile and/or their filtration characteristics and/or their drying characteristics and/or their lack of hygroscopicity, and/or they may be easier to handle and/or micronise and/or form into tablets. It is also desired to have an improved method of synthesis that is suitable for synthesis of compound A on a multi-gram scale.

- 20 Accordingly, a first aspect of the present invention provides 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound A) substantially in crystalline form, and in particular in Form A.

52

5

“Substantially in crystalline form” as used above, means that at least 50% by weight of compound A is in crystalline form, preferably at least 70% by weight, 80% or 90% by weight. In some embodiments, at least 95% by weight, 99% by weight or even 99.5% or more by weight may be in crystalline form.

5

Compound A as crystalline Form A has an X-ray diffraction pattern ($\lambda=1.5418\text{\AA}$) containing specific peaks at :

Peak	$2\theta^\circ (\pm 0.1^\circ)$
1	12.0
2	17.8
3	21.1
4	22.3
5	29.2

Compound A as crystalline form A may also have the following additional peaks an X-ray diffraction pattern ($\lambda=1.5418\text{\AA}$):

10

Peak	$2\theta^\circ (\pm 0.1^\circ)$
6	10.5
7	14.0
8	21.7
9	24.3
10	26.1

Compound A as crystalline Form A may also be characterised by any combination of three or more peaks selected from the list of 10 peaks above.

15

A representative powder XRD pattern of compound A as Form A is shown in Figure 3.

20

Without wishing to be bound by theory, compound A is able to readily form a structure in which solvent molecules can occupy positions within the crystal lattice. Such solvates, not necessarily stoichiometric in nature, can consist of one pure solvate (e.g. Compound A methanolate, and Compound A Tetrahydrofuranate) or potentially can consist of more than one solvent component (e.g. methanol and di-ethyl ether). The solvent molecules typically lie within pockets created by the Compound A molecules. In certain circumstances, the volume of these pockets are sufficiently flexible to incorporate a range of solvents, resulting in little change in the overall structure of the material, and hence only small shifts in the XRPD reflections.

53.

Solvates, including those which share the same overall structure, arise from solution maturation and crystallisation experiments from dichloromethane, ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, 2-butanone, t-butyl methyl ether, toluene, tetrahydrofuran, water, cyclohexane, cyclopropyl methyl ketone, 1,2 dichloroethane, ethyl trifluoroacetate, fluorobenzenehexafluoro-iso-propanol, methyl nonafluorobutyl ether, 2-methyl-1-propanol, nitromethane, propionitrile, trichloroethylene, $\alpha\alpha\alpha$ -trifluorotoluene, heptane, dioxane, acetonitrile, either as pure solvents or when combined with another solvent. The X-ray diffraction pattern of the most common solvate structure is shown in Figure 4, and typically contains most intense peaks at positions listed below:

Peak	$2\theta^\circ (\pm 0.1^\circ)$ ($\lambda=1.5418\text{\AA}$)
1	7.0-7.5
2	10.1-10.6
3	15.1-15.6
4	18.5-19.0
5	21.0-21.5
6	24.8-25.3
7	27.0-27.5

It will be understood that the relative intensities of peaks shown in the figures may vary according to the orientation of the sample under test and on the type and setting of the instrument used so that the intensities in the XRD traces included herein are illustrative and not intended to be used for absolute comparison.

Form A of compound A is substantially free from solvent. The term "substantially free from solvent" as used herein refers to the form having only insignificant amounts of any solvent, e.g. a form with a total of 0.5% by weight or less of any solvent. The total amount of any solvent, including water, may be 0.25%, 0.1%, 0.05% or 0.025% by weight or less.

Form A of compound A may also be characterised using DSC. Form A of compound A when heated from 25°C to 325°C at 10°C per minute will begin melting at 210.1°C $\pm$ 1°C. A representative DSC trace for compound A as Form A is shown in Figure 5.

The second aspect of the present invention provides a method of obtaining 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound

A) as crystalline Form A which comprises crystallising compound A in a solvent and then displacing the solvent from the crystalline form with a displacing agent. The displacing agent may be water or a mixture of a C₁₋₂ alcohol and water.

- 5 In a first embodiment, this method comprises the steps of:
- (i) crystallising 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound A) from a solvent;
 - (ii) if the original solvent is not ethanol, treating the crystalline compound A with ethanol;
 - (iii) treating the crystalline compound A with water to remove trapped ethanol;
 - 10 (iv) drying the resulting product.

The solvent used in the original crystallisation may be, for example, dichloromethane or acetonitrile.

- 15 The methods for obtaining Form A may generally involve solvent replacement. It has been found that compound A crystallises in such a way that channels in the crystal lattice are formed which can trap solvents, thus making them difficult to remove.

- The method of the first embodiment can be used in particular if the solvent used in the
- 20 crystallisation of compound A is dichloromethane. The step of exchanging the dichloromethane as a solvent with ethanol as a solvent can be carried out by distilling the solution of compound A at atmospheric pressure in the presence of ethanol. The exchange is complete when the head temperature approaches the boiling point of ethanol, e.g. at least 73°C. In particular, the exchange may be carried out by distilling out the majority of the DCM, then adding a volume of
- 25 ethanol. The distillation is then continued, with replacing batches of distillate with equal volumes of ethanol.

- Crystallising compound A from the ethanol solvent may be carried out by cooling the solution to below 15°C, preferably less than 10°C, and more preferably to about 8°C. The crystals of
- 30 compound A may then be removed from solution by filtration.

- The crystalline compound A may be treated with water to remove trapped ethanol by suspended the crystalline material in water and heating at reflux for a sufficient time, for example at least three hours, and preferably for about four hours. The crystalline compound A
- 35 may be removed from suspension in water by filtration.

Drying the resulting product of the above step is readily achieved. For example, by heating the product in an oven at a temperature of at least 60°C, preferably at about 70°C.

In another such embodiment, the method comprises the steps of:

- 5 (i) obtaining compound A as crystalline form containing solvent;
(ii) if the original solvent used in the synthesis of compound A in the crystalline form is not a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol (i.e. methanol, ethanol), treating compound A in the crystalline form with a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol;
(ii) drying the resulting product.

10

The resulting product can be further treated with a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol, and dried in order to further isolate compound A in a crystalline Form A.

15

The mixture of water and C₁₋₂ alcohol is preferably in the range of 2:1 to 1:2 by volume, and more preferably 1.5:1 to 1:1.5 by volume. A particularly preferred mixture is 1 part water to 1.2 parts C₁₋₂ alcohol. Another particularly preferred mixture is 2 parts water to 1 part C₁₋₂ alcohol. The C₁₋₂ alcohol is preferably ethanol.

20

Compound A as crystalline Form may be obtained by crystallisation of the compound A from a solvent, as described above.

25

The solvent treatment in step (ii) may be carried out by suspending compound A in the mixture of water and C₁₋₂ alcohol and heating to reflux with stirring. This may be followed by cooling to between 55 and 65°C and filtering, e.g. through a celite pad. The filter pad may be washed with a mixture of water and C₁₋₂ alcohol before being distilled at ambient pressure (usually 1 atm), or above. The distillation may be stopped to yield a suspension that is left at room temperature before subsequent filtration. The resulting filter cake may be washed with water.

30

Drying the resulting product of the above step is readily achieved. For example, by heating the product in an oven at a temperature of at least 50°C, preferably at about 60°C.

The further treatment may proceed in a similar manner to that described above.

In a third embodiment, the method comprises:

- 35 (i) suspending compound A in a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol as the solvent;
(ii) heating the suspension to reflux;
(iii) cooling the solution and seeding with compound A as Form A;

(iv) drying the resulting product.

The resulting product can be further treated with a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol, and dried in order to further isolate compound A in a crystalline Form A.

5

The mixture of water and C₁₋₂ alcohol is preferably in the range of 2:1 to 1:5 by volume, and more preferably 1:2 to 1:4 by volume. A particularly preferred mixture is 1 part water to 3 parts C₁₋₂ alcohol. The C₁₋₂ alcohol is preferably ethanol.

- 10 Step (iii) may comprise cooling the solution to between 65 and 75°C (e.g. 70°C) and filtering, e.g. through a celite pad. The filter pad may be washed with a mixture of water and C₁₋₂ alcohol before being distilled (e.g. at ambient pressure, or above). The seeding may occur after the resulting filtrate has been cooled to between 40 and 50°C (e.g. 45°C). The resulting suspension may be cooled to ambient temperature (e.g. 20°C) in between 2 and 3 hours (e.g. 2.5 hours) and maintained at said temperature for long enough to establish crystallisation. This may be between 12 and 24 hours, and may be for about 16 hours. At the end of this period, further water may be added. The amount may be about equal to the volume of total solvent (water and C₁₋₂ alcohol) present and may be added slowly, for example over a period of 4 to 6 (e.g. 5) hours. The suspension may be held at ambient temperature after the water addition, for example for 2 hours.

The suspension may then be filtered, and the resulting filter cake may be washed with a mixture of C₁₋₂ alcohol and water (in a ratio of between 1:3 and 1:2, e.g. 1:2.3).

- 25 Drying the resulting product of the above step is readily achieved. For example, by heating the product in an oven under vacuum at a temperature of between 40 and 60°C.

A third aspect of the present invention provides a method of synthesising compound A from compound B comprising the step of:

- 30 (i) adding a pre-mixed solution of triethylamine and cyclopropane carbonyl chloride, in an appropriate organic solvent (for example, DCM (dichloromethane)) in a controlled manner, to compound B in the same organic solvent with the temperature of the solution being controlled to be below 20°C.
- 35 In some embodiments, the method further comprises the step of:
- (ii) agitating (e.g. stirring) the resulting solution from (i) until the reaction is complete, whilst maintaining the temperature of the solution below 20°C.

The addition in step (i) may take place in a dropwise manner

5 This method is more controlled than that described in WO 2004/080976, resulting in a more regioselective addition of the acid chloride. The less controlled method of the prior art can lead to addition of the acid chloride at the phthalazinone nitrogen and or oxygen, as well as at the desired piperidine nitrogen.

10 It is preferred that the above method is carried out under a nitrogen atmosphere.

It is further preferred that the temperature of the solution in stage (ii) is maintained between 10 and 15°C.

15 The product of the above reaction is preferably worked up by at least one water washing step. More preferably the work up contains an initial and final water washing steps, and intermediate washing steps using a dilute acid, e.g. 5% citric acid solution, followed by a dilute base, e.g. 5% sodium carbonate solution.

20 A fourth aspect of the present invention provides a method of synthesising compound A from compound D comprising reacting compound D with 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine, or a mineral acid salt thereof, in the presence of an amide coupling agent and a base, for example, an amine (e.g. a tertiary amine, such as diisopropylethylamine).

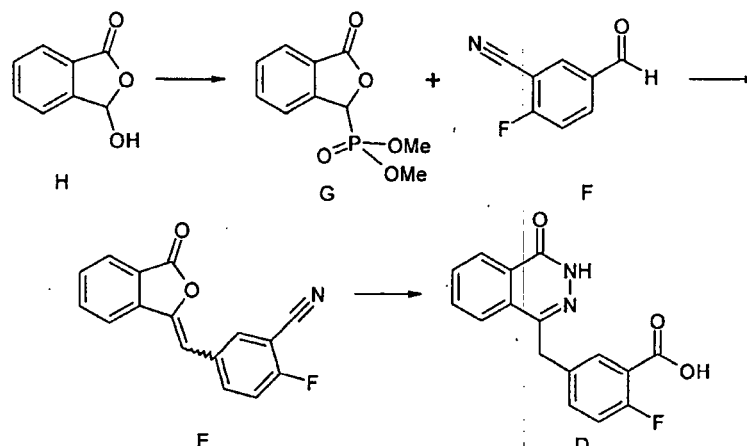
25 The mineral acid salt may be, for example, the hydrochloride salt.

The addition of 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine, or a mineral acid salt thereof, to compound D may be carried out in any suitable solvent, for example, acetonitrile. The amide coupling agent is preferably 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU).

30 It is preferably added to the solution of 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine, or its mineral acid salt, diisopropylethylamine and compound D over a period of time, for example 30 minutes. The temperature of the resulting solution may be maintained at 25°C or below (or 20°C or below, e.g. at 18°C). After its addition, the resulting solution may be left to stand for a period of time. A preferred temperature regime is holding the solution at room temperature for 2 hours.

The resulting compound A may be removed from the solution by cooling to below 10°C (or below 5°C, for example, 3°C) for a period of time (e.g. 1 hour), followed by filtration. The resulting compound A may be washed, for example, with cold acetonitrile.

- 5 In WO 2004/080976, the following route to compound D is disclosed:



- Dimethyl phosphite was added drop-wise to a solution of sodium methoxide in methanol at 0°C. 2-Carboxybenzaldehyde (H) was then added portion-wise to the reaction mixture as a slurry in methanol, with the temperature kept below 5°C. The resulting pale yellow solution was warmed to 20°C over 1 hour. Methanesulphonic acid was added to the reaction drop-wise and the resulting white suspension was evaporated *in vacuo*. The white residue was quenched with water and extracted into chloroform. The combined organic extracts were washed with water, dried over MgSO₄, and evaporated *in vacuo* to yield (3-oxo-1,3-dihydro-isobenzofuran-1-yl)phosphonic acid dimethyl ester (G) as a white solid (yield: 95 %). This was then used without further purification in the next stage.

- To a mixture of (3-oxo-1,3-dihydro-isobenzofuran-1-yl)phosphonic acid dimethyl ester (G) in tetrahydrofuran and 2-fluoro-5-formylbenzonitrile (F) in tetrahydrofuran was added triethylamine drop-wise over 25 min, with the temperature kept below 15°C. The reaction mixture was warmed slowly to 20°C over 1 hour and concentrated *in vacuo*. The white residue was slurried in water for 30 minutes, filtered, washed with water, hexane and ether, and dried to yield 2-fluoro-5-(3-oxo-3H-isobenzofuran-1-ylidenemethyl)benzonitrile (E) as a 50:50 mixture of E and Z isomers (yield: 96 %).

- To a suspension of 2-fluoro-5-(3-oxo-3H-isobenzofuran-1-ylidenemethyl)benzonitrile (E) in water was added aqueous sodium hydroxide solution and the reaction mixture was heated under nitrogen to 90°C for 30 minutes. The reaction mixture was partially cooled to 70°C, and

hydrazine hydrate was added and stirred for 18 hours at 70°C. The reaction was cooled to room temperature and acidified with 2M HCl to pH 4. The mixture was stirred for 10 minutes and filtered. The resulting solid was washed with water, hexane, ether, ethyl acetate and dried to yield compound D as a pale pink powder (yield: 77%).

5

It is also desired to have an improved method of synthesis of compound D.

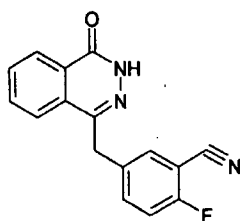
Accordingly a fifth aspect of the present invention provides a method synthesising compound D, comprising the step of:

- 10 (a) synthesising diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate (G') from 2-carboxybenzaldehyde (H);
(b) synthesising 2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzonitrile (E) from diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate.

- 15 It is preferred that compound G' is not isolated in the synthesis. This method avoids the use of the sodium salt of dimethylphosphite which is unstable (Pelchowicz, *et al.*, *J.Chem.Soc.*, 4348-4350 (1961)) in alcoholic solution. It is preferred that the step (a) occurs in 2-methyltetrahydrofuran in which the sodium salt of diethyl phosphite is stable. This salt may be formed *in situ* by adding diethyl phosphite to a cooled solution of sodium t-amylate in 2-methyltetrahydrofuran. The reaction with the sodium salt of diethyl phosphite may be followed
20 by reaction with methanesulphonic acid.

Step (b) may be carried out in 2-methyltetrahydrofuran, with the addition of triethylamine.

- 25 The method of synthesising compound D may further comprise the step of:
(c) synthesising 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzonitrile (ED):



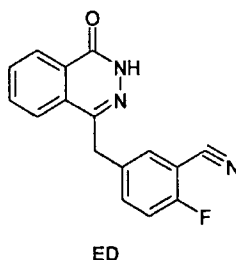
ED

- from compound E by reaction with hydrazine hydrate; and
(d) synthesising compound D from compound ED by reaction with sodium hydroxide.

30

Step (c) may be achieved by using between 1.1 and 1.3 equivalents of hydrazine hydrate in tetrahydrofuran followed by neutralisation of the excess hydrazine hydrate using acetic acid.

A sixth aspect of the present invention provides the compound ED:



and its use in the synthesis of compound D.

5

A further aspect of the invention provides a mineral acid salt of 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine, and a method of synthesis thereof by reacting piperazine with acetic acid, followed by addition of cyclopropanecarbonyl chloride.

10

A seventh aspect of the present invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of the first aspect and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

An eighth aspect of the present invention provides a compound of the first aspect for use in a method of treatment of the human or animal body.

15

A ninth aspect of the present invention provides the use of a compound as defined in the first aspect of the invention in the preparation of a medicament for inhibiting the activity of PARP.

20

Further aspects of the invention provide the use of a compound as defined in the first aspect of the invention in the preparation of a medicament for the treatment of: vascular disease; septic shock; ischaemic injury; neurotoxicity; haemorrhagic shock; viral infection; or diseases ameliorated by the inhibition of the activity of PARP.

25

Another further aspect of the invention provides for the use of a compound as defined in the first aspect of the invention in the preparation of a medicament for use as an adjunct in cancer therapy or for potentiating tumour cells for treatment with ionizing radiation or chemotherapeutic agents.

30

Other further aspects of the invention provide for the treatment of disease ameliorated by the inhibition of PARP, comprising administering to a subject in need of treatment a therapeutically-effective amount of a compound as defined in the first aspect, preferably in the form of a pharmaceutical composition and the treatment of cancer, comprising administering to a subject

in need of treatment a therapeutically-effective amount of a compound as defined in the first aspect in combination, preferably in the form of a pharmaceutical composition, simultaneously or sequentially with ionizing radiation or chemotherapeutic agents.

5 In further aspects of the present invention, the compounds may be used in the preparation of a medicament for the treatment of cancer which is deficient in Homologous Recombination (HR) dependent DNA DSB repair activity, or in the treatment of a patient of a cancer which is deficient in HR dependent DNA DSB repair activity, comprising administering to said patient a therapeutically-effective amount of the compound.

10

The HR dependent DNA DSB repair pathway repairs double-strand breaks (DSBs) in DNA via homologous mechanisms to reform a continuous DNA helix (K.K. Khanna and S.P. Jackson, Nat. Genet. 27(3): 247-254 (2001)). The components of the HR dependent DNA DSB repair pathway include, but are not limited to, ATM (NM_000051), RAD51 (NM_002875), RAD51L1 (NM_002877), RAD51C (NM_002876), RAD51L3 (NM_002878), DMC1 (NM_007068), XRCC2 (NM_005431), XRCC3 (NM_005432), RAD52 (NM_002879), RAD54L (NM_003579), RAD54B (NM_012415), BRCA1 (NM_007295), BRCA2 (NM_000059), RAD50 (NM_005732), MRE11A (NM_005590) and NBS1 (NM_002485). Other proteins involved in the HR dependent DNA DSB repair pathway include regulatory factors such as EMSY (Hughes-Davies, *et al.*, *Cell*, 115, pp523-535). HR components are also described in Wood, *et al.*, *Science*, 291, 1284-1289 (2001).

20

A cancer which is deficient in HR dependent DNA DSB repair may comprise or consist of one or more cancer cells which have a reduced or abrogated ability to repair DNA DSBs through that pathway, relative to normal cells i.e. the activity of the HR dependent DNA DSB repair pathway may be reduced or abolished in the one or more cancer cells.

25

The activity of one or more components of the HR dependent DNA DSB repair pathway may be abolished in the one or more cancer cells of an individual having a cancer which is deficient in HR dependent DNA DSB repair. Components of the HR dependent DNA DSB repair pathway are well characterised in the art (see for example, Wood, *et al.*, *Science*, 291, 1284-1289 (2001)) and include the components listed above.

30

In some preferred embodiments, the cancer cells may have a BRCA1 and/or a BRCA2 deficient phenotype i.e. BRCA1 and/or BRCA2 activity is reduced or abolished in the cancer cells. Cancer cells with this phenotype may be deficient in BRCA1 and/or BRCA2, i.e. expression

35

and/or activity of BRCA1 and/or BRCA2 may be reduced or abolished in the cancer cells, for example by means of mutation or polymorphism in the encoding nucleic acid, or by means of amplification, mutation or polymorphism in a gene encoding a regulatory factor, for example the EMSY gene which encodes a BRCA2 regulatory factor (Hughes-Davies, *et al.*, *Cell*, **115**, 523-535).

BRCA1 and BRCA2 are known tumour suppressors whose wild-type alleles are frequently lost in tumours of heterozygous carriers (Jasin M., *Oncogene*, **21**(58), 8981-93 (2002); Tutt, *et al.*, *Trends Mol Med.*, **8**(12), 571-6, (2002)). The association of BRCA1 and/or BRCA2 mutations with breast cancer is well-characterised in the art (Radice, P.J., *Exp Clin Cancer Res.*, **21**(3 Suppl), 9-12 (2002)). Amplification of the EMSY gene, which encodes a BRCA2 binding factor, is also known to be associated with breast and ovarian cancer.

Carriers of mutations in BRCA1 and/or BRCA2 are also at elevated risk of cancer of the ovary, prostate and pancreas.

In some preferred embodiments, the individual is heterozygous for one or more variations, such as mutations and polymorphisms, in BRCA1 and/or BRCA2 or a regulator thereof. The detection of variation in BRCA1 and BRCA2 is well-known in the art and is described, for example in EP 699 754, EP 705 903, Neuhausen, S.L. and Ostrander, E.A., *Genet. Test*, **1**, 75-83 (1992); Chappnis, P.O. and Foulkes, W.D., *Cancer Treat Res*, **107**, 29-59 (2002); Janatova M., *et al.*, *Neoplasma*, **50**(4), 246-50 (2003); Jancarkova, N., *Ceska Gynekol.*, **68**(1), 11-6 (2003)). Determination of amplification of the BRCA2 binding factor EMSY is described in Hughes-Davies, *et al.*, *Cell*, **115**, 523-535).

Mutations and polymorphisms associated with cancer may be detected at the nucleic acid level by detecting the presence of a variant nucleic acid sequence or at the protein level by detecting the presence of a variant (i.e. a mutant or allelic variant) polypeptide.

Brief Description of Figures

Fig. 1 shows the NMR of compound A after water treatment (example 1);

Fig. 2 shows the powder XRD pattern of compound A as Form A after water treatment (example 1);

Fig. 3 shows a representative powder XRD pattern of compound A as Form A;

Fig. 4 shows a representative powder XRD pattern of compound A as solvated form;

62

Fig. 5 shows a representative DSC trace of compound A as Form A obtained by heating from 25°C to 325°C at 10°C per minute.

Use

- 5 The present invention provides compound A as Form A as an active compound, specifically, active in inhibiting the activity of PARP.

The term "active" as used herein, pertains to the compound which is capable of inhibiting PARP activity. One assay which may conveniently be used in order to assess the PARP inhibition
10 offered by the compound is described in the examples below.

The present invention further provides a method of inhibiting the activity of PARP in a cell, comprising contacting said cell with an effective amount of the active compound, preferably in the form of a pharmaceutically acceptable composition. Such a method may be practised *in vitro* or *in vivo*.
15

For example, a sample of cells may be grown *in vitro* and the active compound brought into contact with said cells, and the effect of the compound on those cells observed. As examples of "effect", the amount of DNA repair effected in a certain time may be determined. Where the
20 active compound is found to exert an influence on the cells, this may be used as a prognostic or diagnostic marker of the efficacy of the compound in methods of treating a patient carrying cells of the same cellular type.

The term "treatment", as used herein in the context of treating a condition, pertains generally to treatment and therapy, whether of a human or an animal (e.g. in veterinary applications), in which some desired therapeutic effect is achieved, for example, the inhibition of the progress of the condition, and includes a reduction in the rate of progress, a halt in the rate of progress, amelioration of the condition, and cure of the condition. Treatment as a prophylactic measure (i.e. prophylaxis) is also included.
25

The term "adjunct" as used herein relates to the use of the active compound in conjunction with known therapeutic means. Such means include cytotoxic regimes of drugs and/or ionising radiation as used in the treatment of different cancer types. In particular, the active compounds are known to potentiate the actions of a number of cancer chemotherapy treatments, which
30 include the topoisomerase class of poisons (e.g. topotecan, irinotecan, rubitecan), most of the
35

known alkylating agents (e.g. DTIC, temozolamide) and platinum based drugs (e.g. carboplatin, cisplatin) used in treating cancer.

5 The active compound may also be used as cell culture additives to inhibit PARP, for example, in order to sensitize cells to known chemotherapeutic agents or ionising radiation treatments *in vitro*.

10 The active compound may also be used as part of an *in vitro* assay, for example, in order to determine whether a candidate host is likely to benefit from treatment with the compound in question.

Administration

15 The active compound or pharmaceutical composition comprising the active compound may be administered to a subject by any convenient route of administration, whether systemically/ peripherally or at the site of desired action, including but not limited to, oral (e.g. by ingestion); topical (including e.g. transdermal, intranasal, ocular, buccal, and sublingual); pulmonary (e.g. by inhalation or insufflation therapy using, e.g. an aerosol, e.g. through mouth or nose); rectal; vaginal; parenteral, for example, by injection, including subcutaneous, intradermal, intramuscular, intravenous, intraarterial, intracardiac, intrathecal, intraspinal, intracapsular, 20 subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratracheal, subcuticular, intraarticular, subarachnoid, and intrasternal; by implant of a depot, for example, subcutaneously or intramuscularly.

25 The subject may be a eukaryote, an animal, a vertebrate animal, a mammal, a rodent (e.g. a guinea pig, a hamster, a rat, a mouse), murine (e.g. a mouse), canine (e.g. a dog), feline (e.g. a cat), equine (e.g. a horse), a primate, simian (e.g. a monkey or ape), a monkey (e.g. marmoset, baboon), an ape (e.g. gorilla, chimpanzee, orangutang, gibbon), or a human.

Formulations

30 While it is possible for the active compound to be administered alone, it is preferable to present it as a pharmaceutical composition (e.g., formulation) comprising the active compound, as defined above, together with one or more pharmaceutically acceptable carriers, adjuvants, excipients, diluents, fillers, buffers, stabilisers, preservatives, lubricants, or other materials well known to those skilled in the art and optionally other therapeutic or prophylactic agents.

35 Thus, the present invention further provides pharmaceutical compositions, as defined above, and methods of making a pharmaceutical composition comprising admixing the active compound, as defined above, together with one or more pharmaceutically acceptable carriers,

64

excipients, buffers, adjuvants, stabilisers, or other materials, as described herein, such that active compound remains as crystalline Form A.

The term "pharmaceutically acceptable" as used herein pertains to compounds, materials, compositions, and/or dosage forms which are, within the scope of sound medical judgement, suitable for use in contact with the tissues of a subject (e.g. human) without excessive toxicity, irritation, allergic response, or other problem or complication, commensurate with a reasonable benefit/risk ratio. Each carrier, excipient, etc. must also be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation.

Suitable carriers, diluents, excipients, etc. can be found in standard pharmaceutical texts. See, for example, "Handbook of Pharmaceutical Additives", 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; and "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2nd edition, 1994.

The formulations may conveniently be presented in unit dosage form and may be prepared by any methods well known in the art of pharmacy. Such methods include the step of bringing into association the active compound with the carrier which constitutes one or more accessory ingredients. In general, the formulations are prepared by uniformly and intimately bringing into association the active compound with liquid carriers or finely divided solid carriers or both, and then if necessary shaping the product.

Formulations may be in the form of suspensions, tablets, granules, powders, capsules, cachets, pills or pastes.

Formulations suitable for oral administration (e.g., by ingestion) may be presented as discrete units such as capsules, cachets or tablets, each containing a predetermined amount of the active compound; as a powder or granules; as a suspension in an aqueous or non-aqueous liquid; or as a paste.

A tablet may be made by conventional means, e.g. compression or molding, optionally with one or more accessory ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing in a suitable machine the active compound in a free-flowing form such as a powder or granules, optionally mixed with one or more binders (e.g. povidone, gelatin, acacia, sorbitol, tragacanth, hydroxypropylmethyl cellulose); fillers or diluents (e.g. lactose, microcrystalline cellulose, calcium hydrogen phosphate); lubricants (e.g. magnesium stearate, talc, silica); disintegrants

65

- (e.g. sodium starch glycolate, cross-linked povidone, cross-linked sodium carboxymethyl cellulose); surface-active or dispersing or wetting agents (e.g., sodium lauryl sulfate); and preservatives (e.g., methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sorbic acid). Molded tablets may be made by molding in a suitable machine a mixture of the powdered compound moistened with an inert liquid diluent. The tablets may optionally be coated or scored and may be formulated so as to provide slow or controlled release of the active compound therein using, for example, hydroxypropylmethyl cellulose in varying proportions to provide the desired release profile. Tablets may optionally be provided with an enteric coating, to provide release in parts of the gut other than the stomach.
- 5
- 10 A capsule may include the active compound in suspension.
- Formulations suitable for topical administration (e.g. transdermal, intranasal, ocular, buccal, and sublingual) may be formulated as a paste.
- 15 Formulations suitable for topical administration to the eye also include eye drops wherein the active compound is suspended in a suitable carrier, especially an aqueous solvent for the active compound.
- 20 Formulations suitable for nasal administration, wherein the carrier is a solid, include a coarse powder having a particle size, for example, in the range of about 20 to about 500 microns which is administered in the manner in which snuff is taken, i.e. by rapid inhalation through the nasal passage from a container of the powder held close up to the nose.
- 25 Formulations suitable for administration by inhalation include those presented as an aerosol spray from a pressurised pack, with the use of a suitable propellant, such as dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichloro-tetrafluoroethane, carbon dioxide, or other suitable gases.

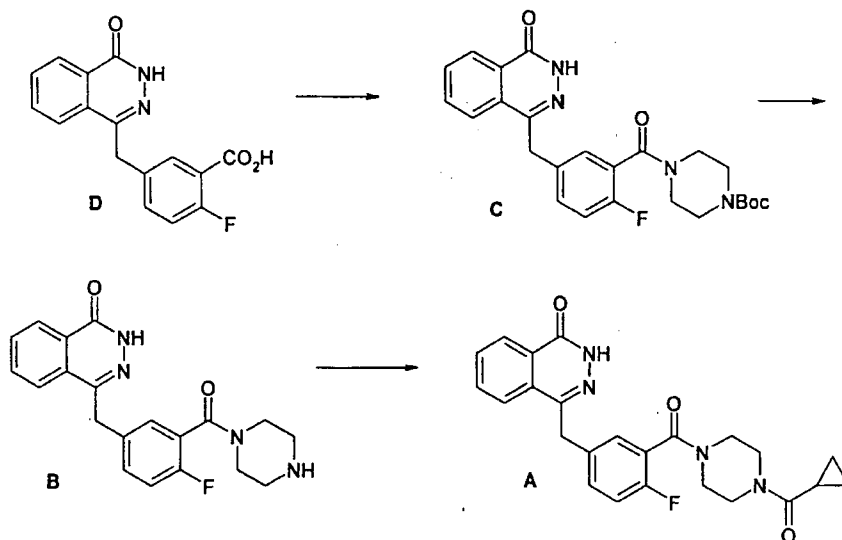
Dosage

It will be appreciated that appropriate dosages of the active compound, and compositions comprising the active compound, can vary from patient to patient. Determining the optimal dosage will generally involve the balancing of the level of therapeutic benefit against any risk or deleterious side effects of the treatments of the present invention. The selected dosage level will depend on a variety of factors including, but not limited to, the activity of the particular compound, the route of administration, the time of administration, the rate of excretion of the compound, the duration of the treatment, other drugs, compounds, and/or materials used in combination, and the age, sex, weight, condition, general health, and prior medical history of the patient. The amount of compound and route of administration will ultimately be at the discretion of the physician, although generally the dosage will be to achieve local concentrations at the site of action which achieve the desired effect without causing substantial harmful or deleterious side-effects.

Administration *in vivo* can be effected in one dose, continuously or intermittently (e.g., in divided doses at appropriate intervals) throughout the course of treatment. Methods of determining the most effective means and dosage of administration are well known to those of skill in the art and will vary with the formulation used for therapy, the purpose of the therapy, the target cell being treated, and the subject being treated. Single or multiple administrations can be carried out with the dose level and pattern being selected by the treating physician.

In general, a suitable dose of the active compound is in the range of about 10mg to about 600 mg per m² body area weight of the subject per day.

25

Examples**Example 1: Synthesis of compound A**

Starting material (D) was synthesised by the method disclosed in WO 2004/080976

Methods**Preparative HPLC**

Samples were purified with a Waters mass-directed purification system utilising a Waters 600 LC pump, Waters Xterra C18 column (5 μ m 19 mm x 50 mm) and Micromass ZQ mass spectrometer, operating in positive ion electrospray ionisation mode. Mobile phases A (0.1% formic acid in water) and B (0.1 % formic acid in acetonitrile) were used in a gradient; 5% B to 100% over 7 min, held for 3 min, at a flow rate of 20 ml/ min.

Analytical HPLC-MS

Analytical HPLC was carried out with a Spectra System P4000 pump and Jones Genesis C18 column (4 μ m, 50 mm x 4.6 mm). Mobile phases A (0.1 % formic acid in water) and B (acetonitrile) were used in a gradient of 5 % B for 1 min rising to 98 % B after 5 min, held for 3 min at a flow rate of 2 ml / min. Detection was by a TSP UV 6000LP detector at 254 nm UV and range 210-600 nm PDA. The Mass spectrometer was a Finnigan LCQ operating in positive ion electrospray mode.

NMR

^1H NMR spectra were recorded using Bruker DPX 300 spectrometer at 300 MHz. Chemical shifts were reported in parts per million (ppm) on the δ scale relative to tetramethylsilane internal standard. Unless stated otherwise all samples were dissolved in DMSO- d_6 .

(a) 4-[2-Fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoyl]-piperazine-1-carboxylic acid tert-butyl ester (C)

5 To a stirred solution of the starting material D (850 g) in dimethylacetamide (DMA) (3561 ml) at room temperature under nitrogen was added HBTU (2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate) (1402 g) in one portion. Hünig's base (iPr₂NEt, 1096 ml) was then added with the temperature kept between 15 to 25°C followed by a solution of 1-Boc-piperazine (637 g) in DMA (1428 ml) with the temperature kept between 15 to 25°C.

10 The solution was stirred at room temperature for 2 hours and sampled for completion (HPLC). Upon completion the solution was added to vigorously stirred water (17085 ml) with the temperature kept between 15 to 25°C and the solid filtered off, washing with water (2 x 7131 ml), hexane (2 x 7131 ml) and methyl tert-butyl ether (MTBE) (2 x 3561 ml). The solid was then dried overnight and then sampled for water content and chemical purity.

15

This reaction was then repeated, see table:

Batch	Yield (g)	Purity (HPLC Area%)	Water Content (K.F.)	Corrected yield
1	1571.3	86.80	24.3	1032.5 g (78%)
2	2781.6	85.00	40.3	1411.5 g (106%)

a. Greater than 100% yield attributed to non-representative sampling

(b) 4-[4-Fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (B)

20 To a stirred solution of industrial methylated spirits (IMS) (2200 ml) and concentrated HCl (4400 ml) was added compound C (2780.2 g) in portions at room temperature under nitrogen, the foaming was controlled by the addition rate. The solution was then stirred at 15 to 25°C for 30 minutes and sampled for completion (HPLC).

25 Upon completion the solution was evaporated to remove any IMS and the aqueous extracted with CH₂Cl₂ (2 x 3500 ml) before the pH was adjusted to >8 using concentrated ammonia. The resultant slurry was then diluted with water (10000 ml) and extracted with CH₂Cl₂ (4 x 3500 ml), washed with water (2 x 2000 ml), dried over MgSO₄ (250g) and evaporated. The crude product was then slurried in CH₂Cl₂ (3500 ml) and added to MTBE (5000 ml). The resultant suspension
30 was filtered and dried at 50°C overnight yielding 611.0 g (58.5% yield) of material with a purity of 94.12%

(c) 4-[3-(4-Cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (A)

To a stirred suspension of compound B (1290 g) in CH₂Cl₂ (15480 ml) under nitrogen was added a pre-mixed solution of triethylamine (470 ml) and cyclopropane carbonyl chloride (306 ml) in CH₂Cl₂ (1290 ml) dropwise with the temperature kept below 20°C. The solution was then stirred at 10-15°C for 15 minutes and sampled for completion. The reaction mixture was found to contain only 1.18% of starting material B and so the reaction was deemed complete and the batch was then worked-up.

The reaction mixture was washed with water (7595 ml), 5% citric acid solution (7595 ml), 5% sodium carbonate solution (7595 ml) and water (7595 ml). The organic layer was then dried over magnesium sulfate (500g).

The CH₂Cl₂ containing product layer was then isolated, filtered through Celite and charged to a 25l vessel. CH₂Cl₂ (8445 ml) was then distilled out at atmospheric pressure and ethanol (10000 ml) added. Distillation was then continued with every 4000 ml of distillate that was removed being replaced with ethanol (4000 ml) until the head temperature reached 73.7°C. The reaction volume was then reduced (to 7730 ml) by which time the head temperature had reached 78.9°C and the solution was allowed to cool to 8°C overnight. The solid was then filtered off, washed with ethanol (1290 ml) and dried at 70°C overnight.

Yield = 1377.3 g (90%). HPLC purity (99.34% [area %]). Contained 4.93% ethanol and 0.45% CH₂Cl₂ by GC.

(d) Water Treatment of Compound A

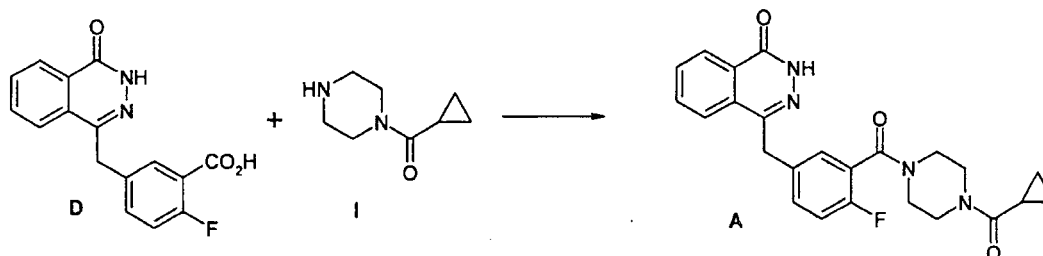
A suspension of compound A (1377.0 g), as produced by the method of Example 1, in water (13770 ml) was heated to reflux for 4 hours, cooled to room temperature and filtered. The solid was washed with water (2754 ml) and dried at 70°C overnight.

Yield = 1274.8 g (92.6%). HPLC purity (99.49% [area %]). Contained 0.01% ethanol and 0.01% CH₂Cl₂ by GC.

¹H NMR spectrum of compound A (DMSO-d₆) following the water treatment is shown in Figure 1.

The powder XRD pattern of Compound A following the water treatment is shown in Figure 2, which shows the compound is as Form A.

Example 2: Alternative synthesis of Compound A using 1-(cyclopropylcarbonyl) piperazine



5 **Methods (also for Examples 3 & 4)**

NMR

¹H NMR spectra were recorded using Bruker DPX 400 spectrometer at 400 MHz. Chemical shifts were reported in parts per million (ppm) on the δ scale relative to tetramethylsilane internal standard. Unless stated otherwise all samples were dissolved in DMSO-d₆.

10

Mass Spectra

Mass spectra were recorded on an Agilent XCT ion trap mass spectrometer using tandem mass spectrometry (MS/MS) for structural confirmation. The instrument was operated in a positive ion electrospray mode.

15

(a) 4-[3-(4-Cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (Compound A)

2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzoic acid (D) (15.23g, 51.07 mmol) was suspended with stirring under nitrogen in acetonitrile (96 ml). Diisopropylethylamine (19.6 ml, 112.3 mmol) was added followed by 1-cyclopropylcarbonylpiperazine (I) (9.45g, 61.28 mmol) and acetonitrile (1ml). The reaction mixture was cooled to 18°C. O-Benzotriazol-1-yl-tetramethyluronium hexafluorophosphate (25.18g, 66.39 mmol) was added over 30 minutes and the reaction mixture was stirred for 2 hours at room temperature. The reaction mixture was cooled to 3°C and maintained at this temperature for 1 hour, before being filtered. The filter cake was washed with cold (3°C) acetonitrile (20 ml) before being dried *in vacuo* at up to 40°C to give the title compound as a pale yellow solid (20.21g).

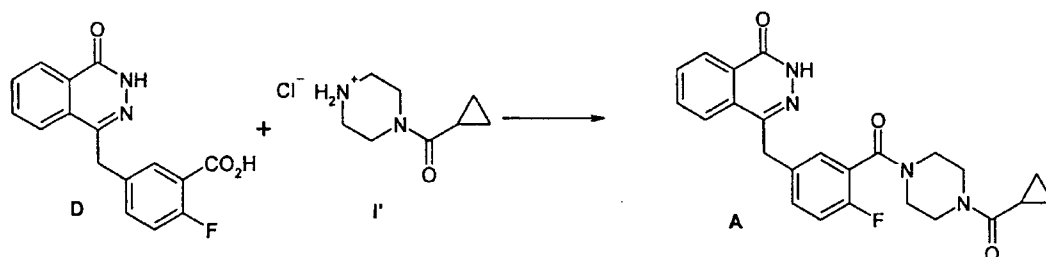
25

Mass Spectrum: MH⁺ 435

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 0.70 (m, 4H), 1.88 (br s, 1H), 3.20 (br s, 2H), 3.56 (m, 6H), 4.31 (s, 2H), 7.17 (t, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.83 (dt, 1H), 7.92 (d, 1H), 8.25 (dd, 1H), 12.53 (s, 1H).

30

Example 3: Alternative synthesis of Compound A using 1-(cyclopropylcarbonyl) piperazine HCl salt



5 (a) 1-(Cyclopropylcarbonyl)piperazine HCl salt (I')

Acetic acid (700 ml) was treated with piperazine (50.00g, 0.581mol) portionwise over 15 minutes with stirring under nitrogen. The reaction mixture was warmed to 40°C and maintained at this temperature until a complete solution was obtained. Cyclopropanecarbonyl chloride 59.2 ml, 0.638mol) was added over 15 minutes. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was filtered and the filtrate distilled under reduced pressure until ~430ml of distillates had been collected. Toluene (550 ml) was charged to the reaction mixture and reduced pressure distillation continued until a further 400ml of distillates were collected. A further charge of toluene (550 ml) was added and reduced pressure distillation continued until 350ml of distillates were collected. The resulting slurry was diluted with toluene (200 ml) and stirred overnight. Further toluene (500ml) was added in order to mobilise the slurry. The slurry was filtered, washed with toluene (100ml) and dried *in vacuo* at 40°C to give the title compound as an off white solid (86.78g).

Mass Spectrum: MH⁺ 155

20 **¹H NMR (400MHz, D₂O) δ:** 0.92 (m, 4H), 1.98 (m, 1H), 3.29 (m, 2H), 3.38 (m, 2H), 3.84 (m, 2H), 4.08 (m, 2H).

(b) Compound A

25 2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzoic acid (D)(0.95g, 3.19 mmol) was suspended with stirring under nitrogen in acetonitrile (4 ml). 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU) (1.45g, 3.83 mmol) was added followed by 1-cyclopropylcarbonylpiperazine HCl salt (I')(0.73g, 3.83 mmol). Diisopropylethylamine (1.39ml, 7.98 mmol) was added over 3 minutes and the reaction mixture was stirred for overnight at room temperature. The reaction mixture was cooled to 5°C and maintained at this temperature for 1 hour, before being filtered. The filter cake was washed with cold (3°C) acetonitrile (2 ml)

72

before being dried *in vacuo* at up to 40°C to give the title compound as a pale yellow solid (0.93g).

(c) Recrystallisation of compound A from aqueous methanol

5 Compound A (9.40g, 21.64 mmol) from step (b) was suspended in a mixture of water (100 ml) and methanol (120 ml). The suspension was heated to reflux with stirring. The hazy solution produced was then cooled to 60°C and filtered through a pad of harborlite. The filter pad was washed with a mixture of water (5 ml) and methanol (5 ml). The filtrate was distilled at atmospheric pressure until 115 ml of distillate had been collected. Distillation was then stopped and the suspension produced allowed to cool to room temperature. The resultant suspension was stirred for ~18 hours before being filtered. The filter cake was washed with water (20 ml), before being dried *in vacuo* at up to 60°C to give the title compound in Form A as a white solid (8.67 g).

15 **Mass Spectrum:** MH+ 435

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 0.70 (m, 4H), 1.88 (br s, 1H), 3.20 (br s, 2H), 3.56 (m, 6H), 4.31 (s, 2H), 7.17 (t, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.83 (dt, 1H), 7.92 (d, 1H), 8.25 (dd, 1H), 12.53 (s, 1H).

20 *(d) Recrystallisation of compound A from aqueous ethanol*

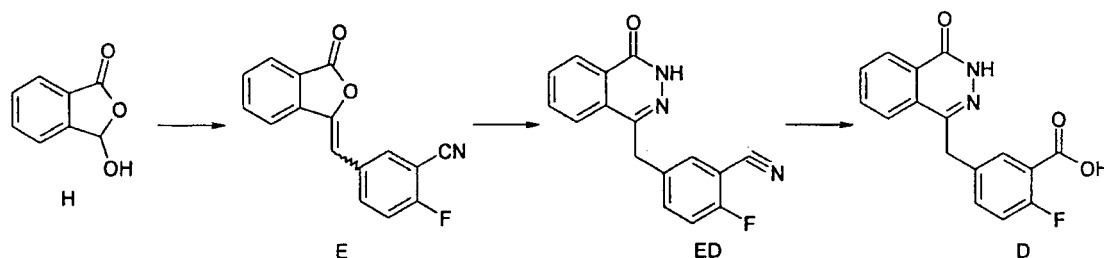
Compound A (9.40g, 21.64 mmol) from step (b) was suspended in a mixture of water (100 ml) and ethanol (50 ml). The suspension was heated to reflux with stirring. The hazy solution produced was then cooled to 60°C and filtered through a pad of harborlite. The filter pad was washed with a mixture of water (5 ml) and ethanol (5 ml). The filtrate was distilled at atmospheric pressure until 53 ml of distillate had been collected. Distillation was then stopped and the suspension produced allowed to cool to room temperature. The resultant suspension was stirred for ~18 hours before being filtered. The filter cake was washed with water (20 ml), before being dried *in vacuo* at 60°C to give the title compound in Form A as a white solid (8.74 g).

30

Mass Spectrum: MH+ 435

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 0.70 (m, 4H), 1.88 (br s, 1H), 3.20 (br s, 2H), 3.56 (m, 6H), 4.31 (s, 2H), 7.17 (t, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.83 (dt, 1H), 7.92 (d, 1H), 8.25 (dd, 1H), 12.53 (s, 1H).

35

Example 4: Alternative synthesis of Compound D**(a) 2-Fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzonitrile (E)**

Sodium t-amylate (99.00 g, 0.854 mol) and 2-methyltetrahydrofuran (960 ml) were cooled to 2°C under a nitrogen atmosphere. Diethyl phosphite (110 ml, 0.855 mol) was added dropwise maintaining the temperature at <5°C. 2-Methyltetrahydrofuran (40 ml) was added as line wash. The reaction was stirred at 2°C for 1 hour 40 minutes. A solution of 2-carboxybenzaldehyde (H) (80 g, 0.533 mol) in 2-methyltetrahydrofuran (200 ml) was added, maintaining the temperature at <7°C throughout the addition. A line wash of 2-methyltetrahydrofuran (40 ml) was added. The reaction mixture was warmed to 20°C and held at 20°C for 20 minutes. Methanesulphonic acid (66 ml, 1.01 mol) was added over 1 hour and 10 minutes, followed by 2-methyltetrahydrofuran (40 ml). The reaction mixture was stirred at 20°C over night. Methanesulphonic acid (7 ml, 0.101 mol) was added, followed by 2-methyltetrahydrofuran (7 ml) and the reaction stirred at 20°C for a further 4 hours. Water (400 ml) was added at room temperature and the resulting biphasic mixture stirred at room temperature for 20 minutes. The lower aqueous layer was removed and a solution of potassium bicarbonate (53.50 g, 0.534 mol) in water (400 ml) was added to the organic layer. The biphasic mixture was stirred at room temperature for 20 minutes and then the lower aqueous solution was removed. The organic fraction was retained (solution of diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate). 2-Fluoro-5-formylbenzonitrile (64g, 0.429 mol) was added to the organic fraction and the mixture was stirred at 20°C. Triethylamine (66 ml, 0.473 mol) was added dropwise followed by 2-methyltetrahydrofuran (7 ml). The reaction mixture was stirred at 20°C over night, then cooled to 5°C, filtered, washed with industrial methylated spirit (480 ml) and then dried *in vacuo* at up to 40°C to give the title compound (91.2 g).

Mass Spectrum: MH⁺ 266

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 6.89 (s, 1H, major isomer), 6.94 (s, 1H, minor isomer), 7.40 (dd, 1H, minor isomer), 7.58 (t, 1H, both isomers), 7.70 (t, 1H, both isomers), 7.89 (t, 1H, both isomers), 7.95 (d, 1H, both isomers), 8.05 (d, 1H, both isomers), 8.15 (m, 2H, major isomer).

(b) 2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzonitrile (ED)

2-Fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzonitrile (E) (20g, 75.40 mmol) and tetrahydrofuran (200 ml) were stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for 30 minutes. Hydrazine monohydrate (4.40 ml, 90.53 mmol) was added, followed by a line wash of tetrahydrofuran (4 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour 45 minutes. Acetic acid (1.10 ml, 19.20 mmol) was added and the reaction mixture warmed to 60°C. The reaction mixture was held at 60°C overnight. The reaction mixture was cooled to 50°C and water (200 ml) added dropwise. The temperature was maintained at 45°C throughout the addition. The reaction mixture was cooled to 20°C, filtered, washed with a mixture of water (30 ml) and tetrahydrofuran (30 ml), and then dried *in vacuo* at up to 40°C to give the title compound (18.7 g).

Mass spectrum: MH+ 280

1H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ: 4.38 (s, 2H), 7.46 (t, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.85 (dt, 1H), 7.92 (m, 2H), 7.99 (d, 1H), 8.27 (dd, 1H), 12.57 (s, 1H).

(c) 2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzoic acid (D)

2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzonitrile (ED) (9.60 g, 34.37 mmol) and water (40 ml) were stirred at 20°C. 2M Sodium hydroxide (36 ml, 72.00 mmol) was added, the reaction mixture warmed to 90°C and held at this temperature overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature and filtered. The filter pad was washed with water (10 ml) and the combined filtrate added to 2M HCl (56 ml, 112.00 mmol) at 60°C over 40 minutes. The resulting suspension was cooled to 50°C and filtered, washed with water (57 ml) and dried *in vacuo* at up to 60°C to give the title compound as a white solid (9.72 g).

Mass Spectrum: MH+ 299

1H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ: 4.36 (s, 2H), 7.24 (dd, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.84 (dt, 2H), 7.90 (dt, 1H), 7.98 (d, 1H), 8.27 (dd, 1H), 12.59 (s, 1H), 13.22 (br s, 1H).

f5.

Example 5: Recrystallisation of Compound A from aqueous ethanol

4-(3-[[4-(cyclopropylcarbonyl)piperazin-1-yl]carbonyl]-4-fluorobenzyl)phthalazin-1(2H)-one (compound A) (20.00g, 44.66 mmol) was suspended in a mixture of water (50 ml) and ethanol (150 ml). The suspension was heated to reflux with stirring. The solution produced was then cooled to 70°C and filtered. The filter pad was washed with a mixture of water (8 ml) and ethanol (22 ml).

The filtrate was cooled to 45°C with stirring. 4-(3-[[4-(cyclopropylcarbonyl)piperazin-1-yl]carbonyl]-4-fluorobenzyl)phthalazin-1(2H)-one (Compound A) in Form A (0.08g) was added in order to seed the mixture. The resulting suspension was cooled to 20°C over 2.5 hours and was stirred at this temperature for a further 16 hours in order to establish crystallisation. Water (200 ml) was added over 5 hours maintaining the temperature at 20°C. At the end of the addition the suspension was held at 20°C for 2 hours.

The suspension was filtered and the filter cake washed with a mixture of ethanol (24 ml) and water (56 ml). The isolated solid was discharged and dried under vacuum at 40-60°C, to give the title compound (Form A) as an off white solid (18.1 g).

Methods for obtaining Figures 3 of 5Powder XRD – Figure 3 (compound A as Form A)

Powder X-ray diffraction was recorded with a Bruker D5000 diffractometer (wavelength of X-rays 1.5418 Å Cu source, Voltage 40kV, filament emission 40 mA). Samples were scanned from 2-40° 2θ using a 0.02° step width and a 4 second time count.

Powder XRD – Figure 4 (compound A as solvated form)

Powder X-ray diffraction of the solvate family was recorded with a Inel XRG-3000 diffractometer (wavelength of X-rays 1.5418 Å Cu source, Voltage 40kV, filament emission 30 mA), fitted with a curved position sensitive detector (range 120° 2θ). Samples were scanned from 2.5-40° 2θ using a 0.03° step width typically with a total collection time of 300s.

Differential Scanning Calorimetry (DSC) – Figure 5

DSC was recorded using a Mettler DSC820E with TSO801RO robotic system. Typically less than 5mg of material, contained in a 40µl aluminium pan fitted with a pierced lid, was heated over the temperature range 25°C to 325°C at a constant heating rate of 10°C per minute. A nitrogen purge gas was used with flow rate 100ml per minute.

Example 6**Inhibitory Action**

In order to assess the inhibitory action of the active compound, the following assay was used to determine an IC₅₀ value.

Mammalian PARP, isolated from Hela cell nuclear extract, was incubated with Z-buffer (25mM Hepes (Sigma); 12.5 mM MgCl₂ (Sigma); 50mM KCl (Sigma); 1 mM DTT (Sigma); 10% Glycerol (Sigma) 0.001% NP-40 (Sigma); pH 7.4) in 96 well FlashPlates (TRADE MARK) (NEN, UK) and varying concentrations of said inhibitors added. All compounds were diluted in DMSO and gave final assay concentrations of between 10 and 0.01 µM, with the DMSO being at a final concentration of 1% per well. The total assay volume per well was 40 µl.

After 10 minutes incubation at 30°C the reactions were initiated by the addition of a 10 µl reaction mixture, containing NAD (5µM), ³H-NAD and 30mer double stranded DNA-oligos. Designated positive and negative reaction wells were done in combination with compound wells (unknowns) in order to calculate % enzyme activities. The plates were then shaken for 2 minutes and incubated at 30°C for 45 minutes.

Following the incubation, the reactions were quenched by the addition of 50 µl 30% acetic acid to each well. The plates were then shaken for 1 hour at room temperature.

The plates were transferred to a TopCount NXT (TRADE MARK) (Packard, UK) for scintillation counting. Values recorded are counts per minute (cpm) following a 30 second counting of each well.

The % enzyme activity for the compound is then calculated using the following equation:

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left(100 \times \frac{(\text{cpm of unknowns} - \text{mean negative cpm})}{(\text{mean positive cpm} - \text{mean neagative cpm})} \right)$$

IC₅₀ values (the concentration at which 50% of the enzyme activity is inhibited) were calculated, which are determined over a range of different concentrations, normally from 10 µM down to 0.001 µM. Such IC₅₀ values are used as comparative values to identify increased compound potencies.

ff

Compound A has an IC_{50} of about 5 nM.

Potential Factor

- 5 The Potential Factor (PF_{50}) for the active compound is calculated as a ratio of the IC_{50} of control cell growth divided by the IC_{50} of cell growth + PARP inhibitor. Growth inhibition curves for both control and compound treated cells are in the presence of the alkylating agent methyl methanesulfonate (MMS). The test compound was used at a fixed concentration of 0.2 micromolar. The concentrations of MMS were over a range from 0 to 10 μ g/ml.
- 10 Cell growth was assessed using the sulforhodamine B (SRB) assay (Skehan, P., *et al.*, (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J. Natl. Cancer Inst. 82, 1107-1112.). 2,000 HeLa cells were seeded into each well of a flat-bottomed 96-well microtiter plate in a volume of 100 μ l and incubated for 6 hours at 37°C. Cells were either replaced with media alone or with media containing PARP inhibitor at a final concentration of 0.5, 1 or 5 μ M.
- 15 Cells were allowed to grow for a further 1 hour before the addition of MMS at a range of concentrations (typically 0, 1, 2, 3, 5, 7 and 10 μ g/ml) to either untreated cells or PARP inhibitor treated cells. Cells treated with PARP inhibitor alone were used to assess the growth inhibition by the PARP inhibitor.
- 20 Cells were left for a further 16 hours before replacing the media and allowing the cells to grow for a further 72 hours at 37°C. The media was then removed and the cells fixed with 100 μ l of ice cold 10% (w/v) trichloroacetic acid. The plates were incubated at 4°C for 20 minutes and then washed four times with water. Each well of cells was then stained with 100 μ l of 0.4% (w/v) SRB in 1% acetic acid for 20 minutes before washing four times with 1% acetic acid. Plates
- 25 were then dried for 2 hours at room temperature. The dye from the stained cells was solubilized by the addition of 100 μ l of 10mM Tris Base into each well. Plates were gently shaken and left at room temperature for 30 minutes before measuring the optical density at 564nm on a Microquant microtiter plate reader.
- 30 Compound A has a PF_{50} at 200nM of at least 20.

CLAIMS

1. 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one as crystalline Form A.

5

2. The compound of claim 1 having the following characteristic peaks in a powder XRD:

Peak	$2\theta^\circ (\pm 0.1^\circ)$ ($\lambda=1.5418\text{\AA}$)
1	12.0
2	17.8
3	21.1
4	22.3
5	29.2

3. The compound of claim 1 having the following characteristic peaks in a powder XRD:

Peak	$2\theta^\circ (\pm 0.1^\circ)$ ($\lambda=1.5418\text{\AA}$)
1	12.0
2	17.8
3	21.1
4	22.3
5	29.2
6	10.5
7	14.0
8	21.7
9	24.3
10	26.1

- 10 4. The compound of any one of claims 1 to 3, which begins melting at $210.1^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ when heated from 25°C to 325°C at 10°C per minute in DSC.

5. A method of obtaining 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound A) as crystalline Form A comprising the steps of:
- 15 (i) crystallising 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one from a solvent;
- (ii) if the original solvent is not ethanol, treating the crystalline compound A with ethanol;

79

- (iii) treating the crystalline compound A with water to remove trapped ethanol;
- (iv) drying the resulting product.

6. A method of obtaining 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound A) as crystalline Form A comprising the steps of:

5 (i) crystallising 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one from a solvent;

(ii) if the original solvent used in the synthesis of compound A in the crystalline form is not a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol, heating the compound with a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol;

10 (iii) distilling the mixture at ambient pressure; and

(iv) drying the resulting product.

7. A method of obtaining 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (compound A) as crystalline Form A comprising the steps of:

15 (i) suspending compound A in a mixture of water and a C₁₋₂ alcohol as the solvent;

(ii) heating the suspension to reflux;

(iii) cooling the solution and seeding with compound A as Form A;

(iv) drying the resulting product.

8. A method of synthesising 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one from 4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one comprising the step of:

(i) adding a pre-mixed solution of triethylamine and cyclopropane carbonyl chloride, in an organic solvent in a controlled manner, to 4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one in the same organic solvent with the temperature of the solution being controlled to be below 20°C.

25

9. A method of synthesising 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one from 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid comprising reacting 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid with 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine or a mineral acid salt thereof in the presence of an amide coupling agent.

30

10. A method synthesising 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid, comprising the step of:

35

80

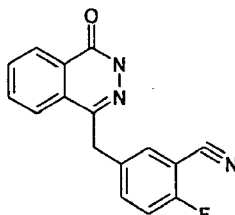
34

- (a) synthesising diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate from 2-carboxybenzaldehyde;
- (b) synthesising 2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzonitrile from diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate.

5

11. The method of claim 10, further comprising the step of:

- (c) synthesising 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzonitrile (ED):

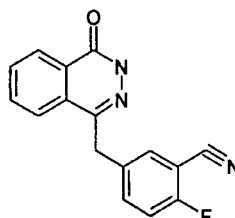


ED

from compound E by reaction with hydrazine hydrate; and

- 10 (d) synthesising compound D from compound ED by reaction with sodium hydroxide.

12. 2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzonitrile (ED):



ED

15

13. A pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of claims 1 to 4 and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

14. A compound according to any one of claims 1 to 4 for use in a method of treatment of the human or animal body.

20

15. A compound according to any one of claims 1 to 4 for the use in a method of inhibiting PARP in the treatment of the human or animal body.

25 16. The use of a compound according to any one of claims 1 to 4 in the preparation of a medicament for inhibiting the activity of PARP.

17. The use of a compound according to any one of claims 1 to 4 in the preparation of a medicament for the treatment of: vascular disease; septic shock; ischaemic injury; neurotoxicity; haemorrhagic shock; viral infection; or diseases ameliorated by the inhibition of the activity of PARP.

5

18. The use of a compound according to any one of claims 1 to 4 in the preparation of a medicament for use as an adjunct in cancer therapy or for potentiating tumour cells for treatment with ionizing radiation or chemotherapeutic agents.

10

19. Use of a compound according to claims 1 to 4 in the manufacture of a medicament for use in the treatment of cancer in an individual, wherein said cancer is deficient in HR dependent DNA DSB repair pathway.

15

20. Use according to claim 19, wherein said cancer comprises one or more cancer cells having a reduced or abrogated ability to repair DNA DSB by HR relative to normal cells.

21. Use according to claim 20, wherein said cancer cells have a BRCA1 or BRCA2 deficient phenotype.

20

22. Use according to claim 21, wherein said cancer cells are deficient in BRCA1 or BRCA2.

23. Use according to any one of claims 19 to 22, wherein said individual is heterozygous for a mutation in a gene encoding a component of the HR dependent DNA DSB repair pathway.

25

24. Use according to claim 23, wherein said individual is heterozygous for a mutation in BRCA1 and/or BRCA2.

25. Use according to any one of the claims 19 to 24, wherein said cancer is breast, ovary, pancreas or prostate cancer.

30

26. Use according to any one of claims 19 to 25, wherein said treatment further comprises administration of ionising radiation or a chemotherapeutic agent.

02

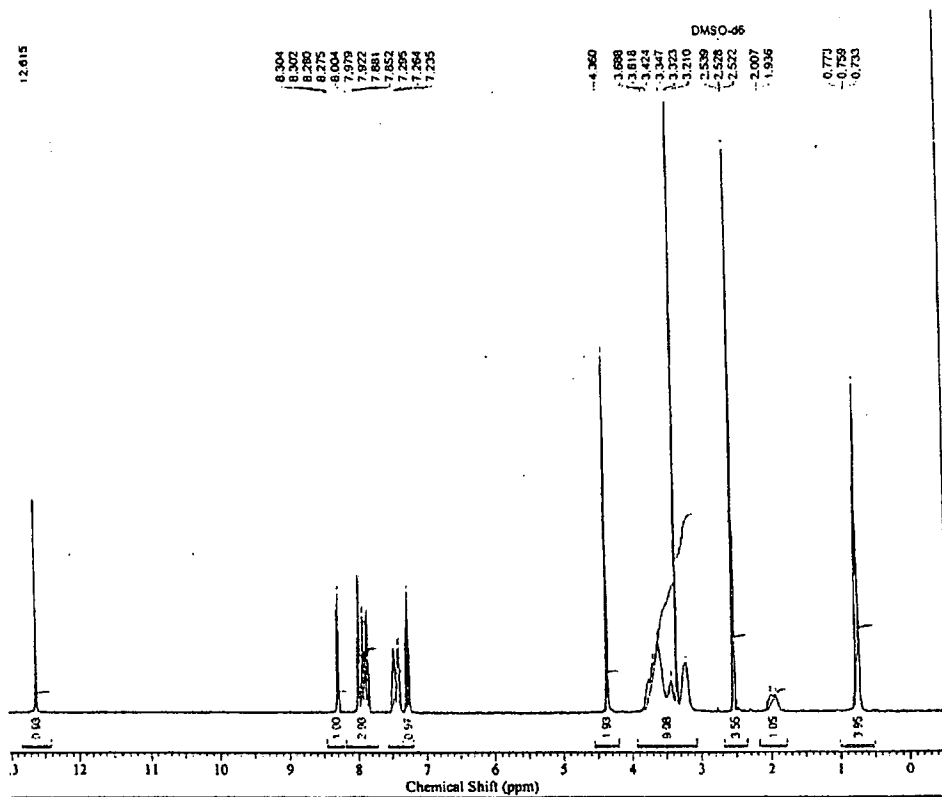


Figure 1

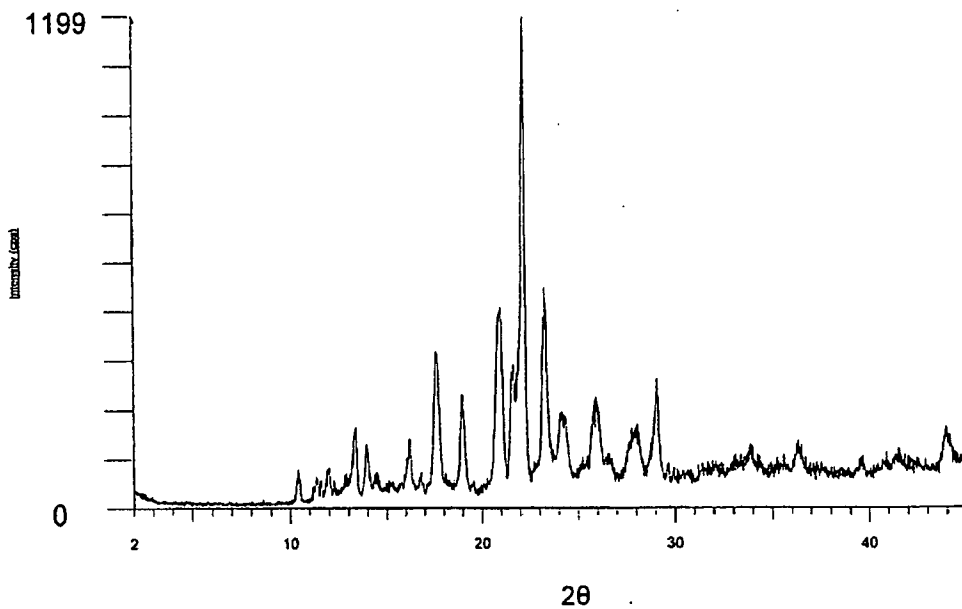


Figure 2

83.

2/3

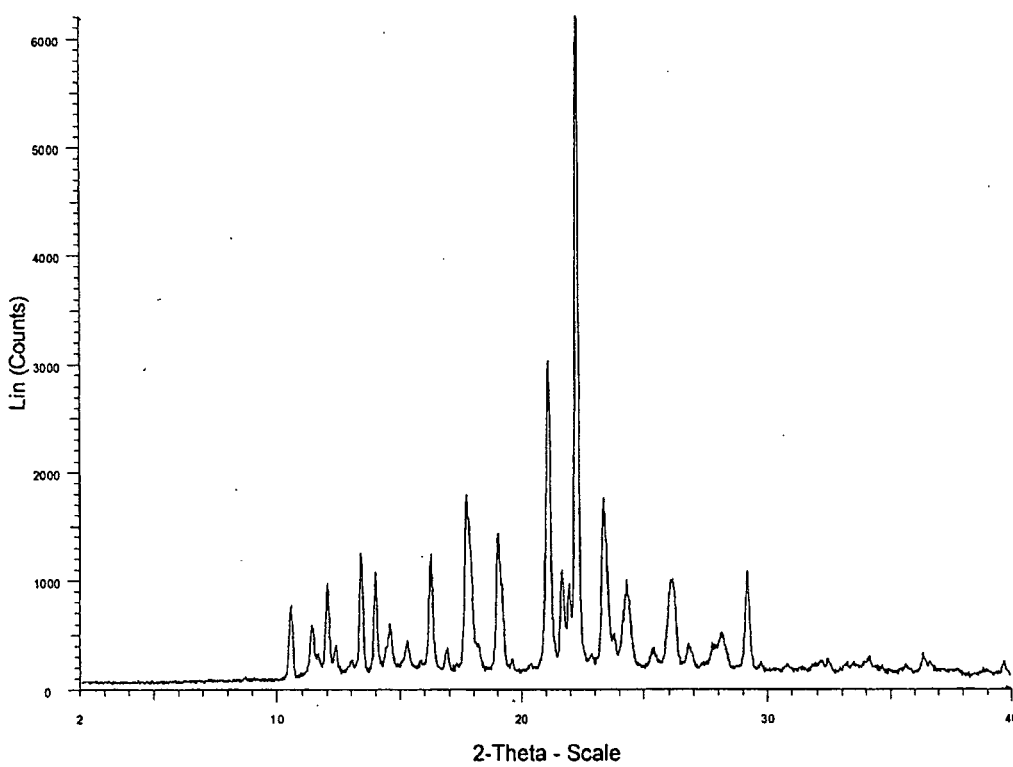


Figure 3

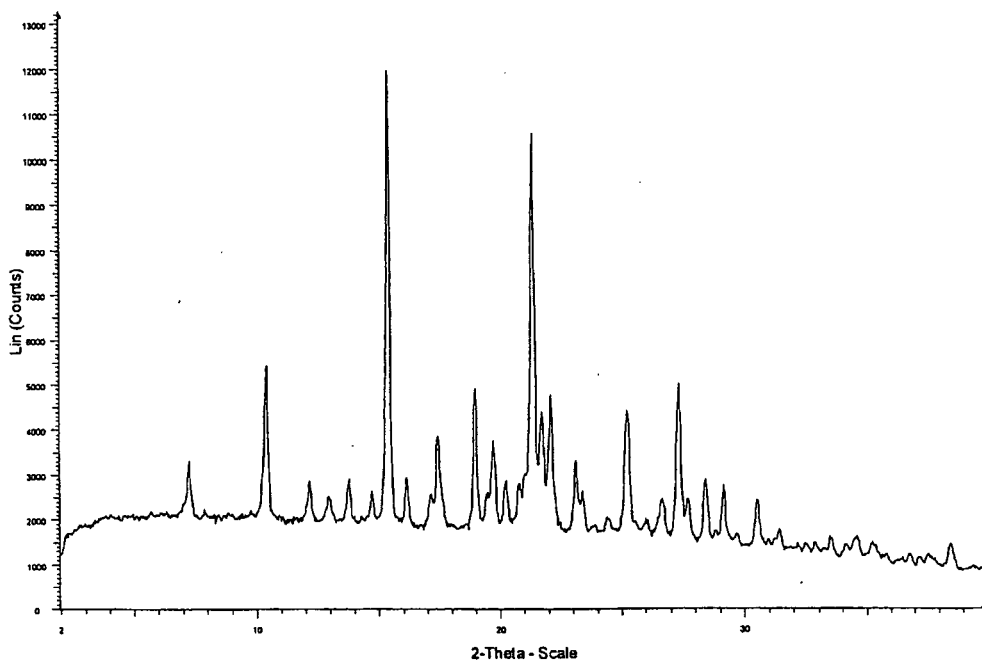


Figure 4

84

3/3

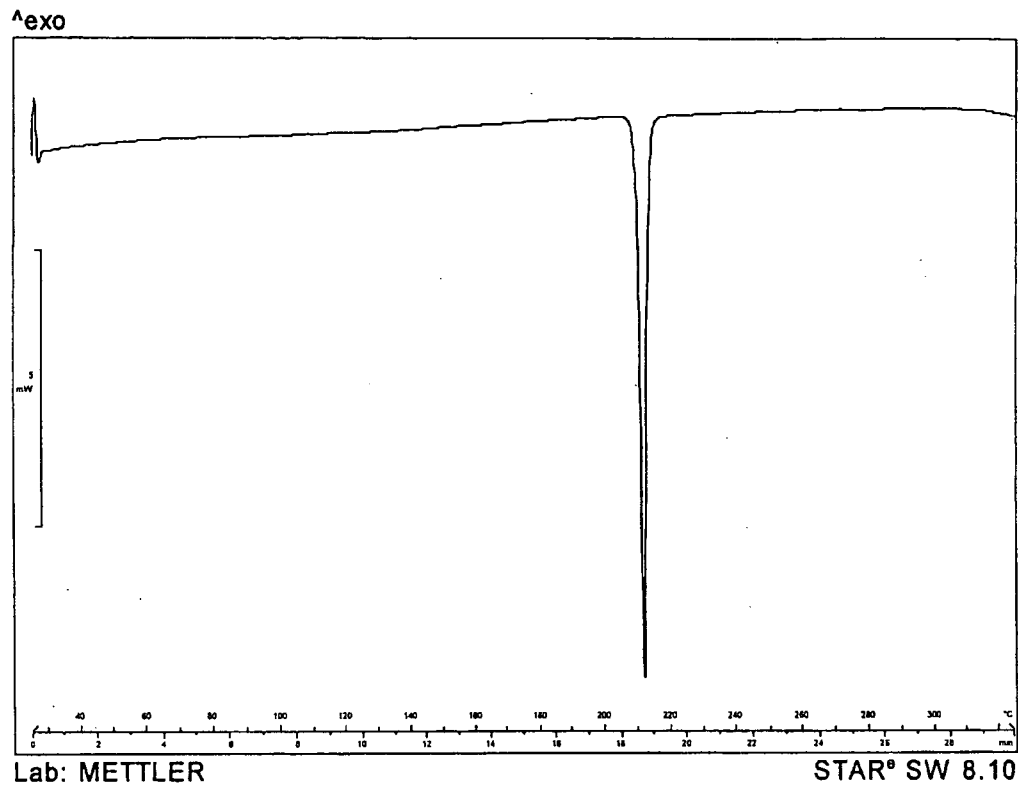


Figure 5

FORMA POLIMÓRFICA DE 4-[3-(4-CICLOPROPANCARBONIL-PIPERAZIN-1-CARBONIL)-4-FLUOROBENCIL]-2H-FTALAZIN-1-ONA

La presente invención se relaciona con una forma cristalina y métodos de síntesis mejorados de un derivado ftalazinona particular, intermediarios de la síntesis y composiciones farmacéuticas y usos de la forma cristalina.

Se ha sugerido la participación de la enzima PARP de mamíferos (una proteína de 113 kDa con dominios múltiples) en la señalización del daño de ADN debido a su capacidad para reconocer y unirse rápidamente a rupturas en cadenas de ADN de cadena simple o doble (D'Amours, *et al.*, *Biochem. J.*, **342**, 249-268 (1999)).

Numerosas observaciones han llevado a la conclusión de que la enzima PARP participa en diversas funciones relacionadas con el ADN incluyendo amplificación de genes, división celular, diferenciación, apoptosis, reparación de cortes de bases del ADN y que también afecta la longitud del telómero y la estabilidad de los cromosomas (d'Adda di Fagagna, *et al.*, *Nature Gen.*, **23(1)**, 76-80 (1999)).

Los estudios sobre el mecanismo por el cual PARP modula la reparación del ADN y otros procesos han identificado su importancia en la formación de cadenas de poli(ADP-ribosa) dentro del núcleo celular (Althaus, F.R. y Richter, C., *ADP-Ribosylation of Proteins: Enzymology and Biological Significance*, Springer-Verlag, Berlín (1987)). La PARP activada y unida a ADN utiliza NAD para sintetizar poli(ADP-ribosa) en una variedad de proteínas nucleares blanco, incluyendo topoisomerasas, histonas y la propia PARP (Rhun, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**, 1-10 (1998)).

También se ha asociado la poli(ADP-ribosil)ación con la transformación maligna. Por ejemplo, la actividad de PARP es mayor en núcleos aislados de fibroblastos transformados con SV40, mientras que las células leucémicas y las células de cáncer de colon presentan una mayor actividad enzimática que los leucocitos y la mucosa del colon normal equivalente (Miwa, *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, **181**, 313-321 (1977); Burzio, *et al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **149**, 933-938 (1975); y Hirai, *et al.*, *Cancer Res.*, **43**, 3441-3446 (1983)).

Se ha usado una cantidad de inhibidores de PARP de bajo peso molecular para elucidar la participación funcional de la poli(ADP-ribosil)ación en la reparación del ADN. En las células tratadas con agentes alquilantes, la inhibición de PARP conduce a un incremento marcado en la ruptura de las cadenas de ADN y la muerte de las células (Durkacz, et al., *Nature*, **283**, 593-596 (1980); Berger, N.A., *Radiation Research*, **101**, 4-14 (1985)).

Luego se demostró que estos inhibidores potenciaban los efectos de la respuesta a la radiación, suprimiendo la reparación de daños potencialmente letales (Ben-Hur, et al., *British Journal of Cancer*, **49** (Supl. VI), 34-42 (1984); Sclicker, et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, **75**, 91-100 (1999)). Se ha informado que los inhibidores de PARP son eficaces en la radio-sensibilización de las células tumorales hipóxicas (US 5032617, US 5215738 y US 5041653).

Además, los animales con noqueados para PARP (PARP $-/-$) presentan inestabilidad genómica como respuesta a agentes alquilantes e irradiación con rayos γ (Wang, et al., *Genes Dev.*, **9**, 509-520 (1995); Menissier de Murcia, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, **94**, 7303-7307 (1997)).

También se ha demostrado una participación de PARP en determinadas enfermedades vasculares, en el shock séptico, las lesiones isquémicas y la neurotoxicidad (Cantoni, et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **1014**, 1-7 (1989); Szabo, et al., *J. Clin. Invest.*, **100**, 723-735 (1997)). El daño provocado por radicales de oxígeno en el ADN que conduce a rupturas de las cadenas de ADN, que luego son reconocidas por PARP, es un factor contribuyente importante para estos estados de enfermedad, como lo indican los estudios de inhibidores de PARP (Cosi, et al., *J. Neurosci. Res.*, **39**, 38-46 (1994); Said, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, **93**, 4688-4692 (1996)). Más recientemente, se demostró que PARP participaba en la patogénesis del shock hemorrágico (Liaudet, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, **97**(3), 10203-10208 (2000)).

También se ha demostrado que una infección retroviral eficiente de células de mamífero es bloqueada por inhibición de la actividad de PARP. Se demostró dicha inhibición de infecciones con vectores retrovirales recombinantes en diversos tipos celulares diferentes (Gaken, et al., *J. Virology*, **70**(6), 3992-4000 (1996)). Por consiguiente, se han desarrollado inhibidores de PARP para su uso en terapias

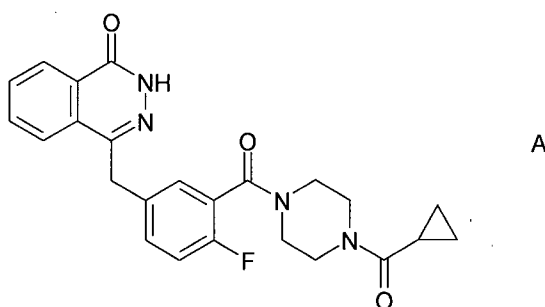
antivirales y en el tratamiento del cáncer (WO 91/18591).

Más aún, se ha propuesto que la inhibición de PARP demora el inicio de las características de envejecimiento en fibroblastos humanos (Rattan y Clark, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **201(2)**, 665-672 (1994)). Esto se puede relacionar con la participación de PARP en el control de la función de los telómeros (d'Adda di Fagagna, et al., *Nature Gen.*, **23(1)**, 76-80 (1999)).

En WO 2004/080976 se describen numerosos derivados ftalazinonas, su actividad inhibidora de PARP y su uso en consecuencia en el tratamiento de cáncer, ya sea junto con una radioterapia o quimioterapia o como un agente único.

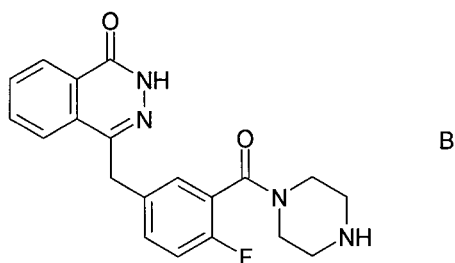
En WO 2005/053662 se describe el uso de inhibidores de PARP, en particular derivados de ftalazinonas, como inhibidores de la reparación de rupturas de bases (BER). Se describe el uso de estos inhibidores en la elaboración de medicamentos para el tratamiento de los tipos de cáncer que son deficientes en la actividad de reparación de ADN DSB dependientes de recombinación homóloga (HR), en particular en los tipos de cáncer que presentan un fenotipo deficiente en BRCA1 y/o BRCA2.

El compuesto 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) descrito en WO 2004/080976;

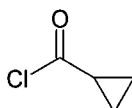


es de particular interés.

En WO 2004/080976, el compuesto A se sintetizó como uno de numerosos compuestos de una biblioteca a partir de 4-[4-fluoro-3-(piperazin-1-carbonil)-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto B):

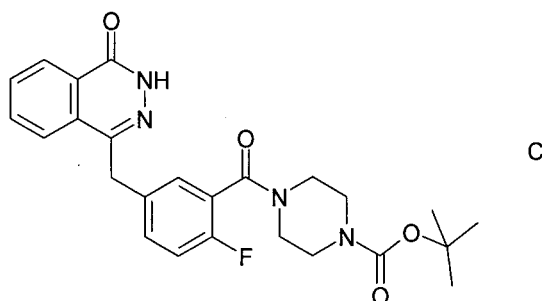


por adición de cloruro de ciclopropancarboxilo:



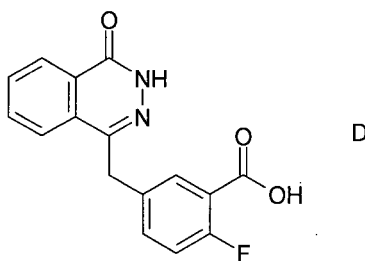
a una solución de (B) en diclorometano, seguido por base de Hünig (N,N-diisopropiletilamina). Esta reacción se efectuó bajo agitación a temperatura ambiente durante 16 horas, y el compuesto resultante se purificó por HPLC preparativa.

El derivado piperazina (B) se preparó por desprotección de ter-butiléster del ácido 4-[2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihidro-ftalazin-1-ilmetil)-benzoil]-piperazin-1-carboxílico (compuesto C):

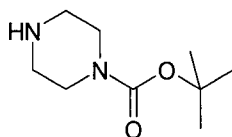


mediante el uso de HCl 6 M y etanol durante 1 hora, seguido por alcalinización con amoníaco a pH 9, y extracción en diclorometano.

El derivado piperazina (C) protegido con Boc se preparó a partir del ácido 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihidro-ftalazin-1-ilmetil)-benzoico (compuesto D):



por adición de ter-butiléster del ácido piperazin-1-carboxílico:



hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU) y N,N-diisopropiletilamina en dimetilacetamida, seguido por agitación durante 18 horas.

Las formas particulares del compuesto A pueden presentar propiedades ventajosas, por ejemplo con respecto a su solubilidad y/o su estabilidad y/o su biodisponibilidad y/o su perfil de impurezas y/o sus características de filtración y/o sus características de secado y/o su falta de higroscopicidad y/o mayor facilidad de manipulación y/o micronización y/o conformación en tabletas. También resulta deseable contar con un método de síntesis mejorado que sea adecuado para la síntesis del compuesto A a una escala de multigramo.

Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención provee el compuesto 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) sustancialmente en una forma cristalina y, en particular, en la Forma A.

El término "sustancialmente en una forma cristalina" según se usó previamente, significa que al menos un 50% en peso del compuesto A se encuentra en una forma cristalina, preferentemente al menos un 70% en peso, 80% o 90% en peso. En algunas realizaciones, al menos un 95% en peso, 99% en peso o aún un 99,5% o más en peso se puede encontrar en una forma cristalina.

El compuesto A en la forma cristalina A presenta un patrón de difracción de rayos X ($\lambda = 1,5418\text{\AA}$) con picos específicos en:

Pico	2θ° (± 0,1°)
1	12,0
2	17,8
3	21,1
4	22,3
5	29,2

El compuesto A en la forma cristalina A también puede presentar los siguientes picos adicionales en el patrón de difracción de rayos X ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$):

Pico	2θ° (± 0,1°)
6	10,5
7	14,0
8	21,7
9	24,3
10	26,1

El compuesto A en la forma cristalina A también se puede caracterizar por cualquier combinación de tres o más picos seleccionados del listado de 10 picos precedente.

En la Figura 3 se muestra un patrón de XRD de polvo representativo del compuesto A en la Forma A.

Sin tener en cuenta la teoría, el compuesto A permite formar fácilmente una estructura en la cual las moléculas de solvente pueden ocupar posiciones dentro de la red cristalina. Dichos solvatos, que no son necesariamente de naturaleza estequiométrica, pueden consistir de un solvato puro (por ejemplo, metanolato del Compuesto A y tetrahidrofuranato del Compuesto A) o pueden consistir potencialmente de más de un componente solvente (por ejemplo, metanol y di-

etiléter). Las moléculas de solvente se encuentran típicamente dentro de bolsillos creados por las moléculas del compuesto A. Bajo determinadas circunstancias, el volumen de estos bolsillos son suficientemente flexibles como para incorporar un rango de solventes, dando como resultado poco cambio en la estructura global del material, y por ende tan solo pequeños desplazamiento en las reflexiones XRPD.

Los solvatos, incluyendo los que comparten la misma estructura general, provienen de experimentos de maduración y cristalización de la solución a partir de diclorometano, acetato de etilo, metanol, etanol, isopropanol, 2-butanona, t-butilmetiléter, tolueno, tetrahidrofurano, agua, ciclohexano, ciclopropilmetilcetona, 1,2-dicloroetano, trifluoroacetato de etilo, fluorobencenhexafluoro-iso-propanol, metil nonafluorobutil éter, 2-metil-1-propanol, nitrometano, propionitrilo, tricloroetileno, $\alpha\alpha\alpha$ -trifluorotolueno, heptano, dioxano, acetonitrilo, ya sea como solventes puros o combinados con otro solvente. El patrón de difracción de rayos X de la estructura de solvato más común se muestra en la Figura 4, y típicamente contiene los picos más intensos en las posiciones que se enumeran a continuación:

Pico	$2\theta^{\circ} (\pm 0,1^{\circ})$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$)
1	7,0-7,5
2	10,1-10,6
3	15,1-15,6
4	18,5-19,0
5	21,0-21,5
6	24,8-25,3
7	27,0-27,5

Se comprenderá que las intensidades relativas de los picos que se muestran en las figuras pueden variar de acuerdo con la orientación de la muestra bajo prueba y del tipo y ajuste del instrumento usado de modo tal que las intensidades en los trazados de XRD incluidos en los mismos son ilustrativas y no se pretende usarlas para una comparación absoluta.

La Forma A del compuesto A está sustancialmente libre de solvente. El término "sustancialmente libre de solvente", según se utiliza en la presente, se refiere a la forma que solamente contiene cantidades insignificantes de cualquier solvente, por ejemplo una forma con un total de 0,5% en peso o menos de cualquier solvente. La cantidad total de cualquier solvente, incluyendo agua, puede ser del 0,25%, 0,1%, 0,05% o 0,025% en peso o menos.

La Forma A del compuesto A también se puede caracterizar usando DSC. La Forma A del compuesto A, cuando se calienta desde 25°C hasta 325°C a razón de 10°C por minuto, comenzará a fundirse a $210,1\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. En la Figura 5 se muestra un trazado DSC representativo para el compuesto A en la Forma A.

El segundo aspecto de la presente invención provee un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarboxil-piperazin-1-carboxil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A que comprende cristalizar el compuesto A en un solvente y luego desplazar el solvente de la forma cristalina con un agente de desplazamiento. El agente de desplazamiento puede ser agua o una mezcla de un C₁₋₂ alcohol y agua.

En una primera realización, este método comprende los pasos de:

- (i) cristalizar 4-[3-(4-ciclopropancarboxil-piperazin-1-carboxil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) a partir de un solvente;
- (ii) si el solvente original no es etanol, tratar el compuesto cristalino A con etanol;
- (iii) tratar el compuesto cristalino A con agua para eliminar el etanol atrapado;
- (iv) secar el producto resultante.

El solvente usado en la cristalización original puede ser, por ejemplo, diclorometano o acetonitrilo.

Los métodos para obtener la Forma A en general pueden comprender reemplazo de solventes. Se ha encontrado que el compuesto A se cristaliza de tal manera que se forman canales en la red cristalina que pueden atrapar solventes, dificultando así su eliminación.

El método de la primera realización se puede usar en particular si el solvente usado en la cristalización del compuesto A es diclorometano. El paso de intercambiar el diclorometano como solvente por etanol como solvente se puede efectuar por destilación de la solución del compuesto A a presión atmosférica en presencia de etanol. El intercambio se ha completado cuando la temperatura de la cabeza se aproxima al punto de ebullición del etanol, por ejemplo al menos 73°C. En particular, el intercambio se puede efectuar por destilación de la mayor parte del DCM, luego adición de un volumen de etanol. Después se continúa con la destilación, con reemplazo de lotes de destilado por volúmenes iguales de etanol.

La cristalización del compuesto A a partir del solvente de etanol se puede efectuar enfriando la solución por debajo de 15 °C, preferentemente por debajo de 10°C y más preferentemente a 8 °C aproximadamente. Los cristales del compuesto A se pueden eliminar luego de la solución por filtración.

El compuesto cristalino A puede ser tratado con agua para eliminar el etanol atrapado por suspensión del material cristalino en agua y calentamiento a reflujo por suficiente tiempo, por ejemplo al menos tres horas y preferentemente por aproximadamente cuatro horas. El compuesto cristalino A se puede eliminar de la suspensión en agua por filtración.

El secado del producto resultante del paso anterior se efectúa fácilmente. Por ejemplo, por calentamiento del producto en un horno a una temperatura de al menos 60°C, preferentemente a 70 °C aproximadamente.

En otra tal realización, el método comprende los pasos de:

- (i) obtener el compuesto A como una forma cristalina que contiene solvente;
- (ii) si el solvente original usado en la síntesis del compuesto A en la forma cristalina no es una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol (es decir, metanol, etanol), tratar el compuesto A en la forma cristalina con una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol;
- (ii) secar el producto resultante.

El producto resultante se puede tratar además con una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol y secar con el fin de aislar aún más el compuesto A en la forma cristalina A.

La mezcla de agua y C_{1-2} alcohol se encuentra preferentemente en el rango entre 2:1 y 1:2 en volumen y más preferentemente entre 1,5:1 y 1:1,5 en volumen. Una mezcla particularmente preferida es 1 parte de agua y 1,2 partes de C_{1-2} alcohol. Otra mezcla particularmente preferida comprende 2 partes de agua y 1 parte de C_{1-2} alcohol. El C_{1-2} alcohol es preferentemente etanol.

El compuesto A como la forma cristalina se puede obtener por cristalización del compuesto A a partir de un solvente, como se describió previamente.

El tratamiento del solvente en el paso (ii) se puede efectuar por suspensión del compuesto A en la mezcla de agua y C_{1-2} alcohol y calentamiento a reflujo bajo agitación. Esto puede ser seguido por enfriamiento a una temperatura entre 55 y 65°C y filtración, por ejemplo a través de un lecho de Celite. El lecho filtrante se puede lavar con una mezcla de agua y C_{1-2} alcohol antes de la destilación a presión ambiente (habitualmente a 1 atm) o presión superior. La destilación se puede detener para obtener una suspensión que se deja a temperatura ambiente antes de la filtración posterior. La torta de filtrado resultante se puede lavar con agua.

El secado del producto resultante del paso anterior se efectúa fácilmente. Por ejemplo, por calentamiento del producto en un horno a una temperatura de al menos 50°C, preferentemente a 60 °C aproximadamente.

El tratamiento adicional puede avanzar de manera similar a la descrita precedentemente.

En una tercera realización, el método comprende:

- (i) suspender el compuesto A en una mezcla de agua y un C_{1-2} alcohol como solvente;
- (ii) calentar la suspensión a reflujo;
- (iii) enfriar la solución y sembrar la misma con un compuesto A como la Forma A;
- (iv) secar el producto resultante.

El producto resultante se puede tratar además con una mezcla de agua y un C_{1-2} alcohol y secar con el fin de aislar aún más el compuesto A en la forma cristalina A.

La mezcla de agua y C_{1-2} alcohol se encuentra preferentemente en el rango entre 2:1 y 1:5 en volumen y más preferentemente entre 1:2 y 1:4 en volumen. Una mezcla particularmente preferida es 1 parte de agua y 3 partes de C_{1-2} alcohol. El C_{1-2} alcohol es preferentemente etanol.

El paso (iii) puede comprender el enfriamiento de la solución hasta entre 65 y 75°C (por ejemplo, 70°C) y filtración, por ejemplo a través de un lecho de Celite. El lecho filtrante se puede lavar con una mezcla de agua y C_{1-2} alcohol antes de la destilación (por ejemplo, a presión ambiente o una presión superior). La siembra puede tener lugar después de enfriar el filtrado resultante hasta una temperatura entre 40 y 50°C (por ejemplo, 45°C). La suspensión resultante se puede enfriar hasta temperatura ambiente (por ejemplo, 20°C) sobre un período entre 2 y 3 horas (por ejemplo, 2,5 horas) y mantener a dicha temperatura por suficiente tiempo como para establecer la cristalización. Esto puede demorar entre 12 y 24 horas, y puede ser por 16 horas aproximadamente. Al final de este período, se puede agregar más agua. La cantidad puede ser aproximadamente igual al volumen de solvente total (agua y C_{1-2} alcohol) presente y se puede agregar lentamente, por ejemplo sobre un período de 4 a 6 (por ejemplo 5) horas. La suspensión se puede mantener a temperatura ambiente después de agregar el agua, por ejemplo por 2 horas.

Luego se puede filtrar la suspensión, y la torta de filtrado resultante se puede lavar con una mezcla de C_{1-2} alcohol y agua (a una relación entre 1:3 y 1:2, por ejemplo 1:2,3).

El secado del producto resultante del paso anterior se efectúa fácilmente. Por ejemplo, mediante calentamiento del producto en un horno bajo vacío a una temperatura entre 40 y 60°C.

Un tercer aspecto de la presente invención provee un método de síntesis del compuesto A a partir del compuesto B que comprende el paso de:

(i) agregar una solución premezclada de trietilamina y cloruro de ciclopropancarbonilo, en un solvente orgánico apropiado (por ejemplo, DCM (diclorometano)) de manera controlada, al compuesto B en el mismo solvente orgánico controlando que la temperatura de la solución sea inferior a 20°C.

En algunas realizaciones, el método además comprende el paso de:

(ii) agitar (por ejemplo, batir) la solución resultante de (i) hasta completar la reacción, manteniendo la temperatura de la solución por debajo de 20°C.

La adición en el paso (i) puede ser por gotas.

Este método es más controlado que el que se describe en WO 2004/080976, dando como resultado una adición más regioselectiva del cloruro ácido. El método menos controlado de la técnica anterior puede conducir a la adición del cloruro ácido en el nitrógeno y/u oxígeno de la ftalazinona, así como en el nitrógeno deseado de la piperidina.

Se prefiere conducir el método anterior bajo atmósfera de nitrógeno.

Se prefiere además que la temperatura de la solución en la etapa (ii) se mantenga entre 10 y 15°C.

Preferentemente, el producto de la reacción anterior se aísla y purifica mediante al menos un paso de lavado con agua. Más preferentemente el aislamiento y la purificación comprenden pasos de lavado con agua inicial y final, y pasos de lavado intermedios usando un ácido diluido, por ejemplo solución de ácido cítrico al 5%, seguido por una base diluida, por ejemplo solución de carbonato de sodio al 5%.

Un cuarto aspecto de la presente invención provee un método de síntesis del compuesto A a partir del compuesto D que comprende hacer reaccionar el compuesto D con 1-(ciclopropilcarbonil)piperazina, o una sal de un ácido mineral de la misma, en presencia de un agente de acoplamiento de amida y una base, por ejemplo, una amina (por ejemplo una amina terciaria, tal como diisopropiletilamina).

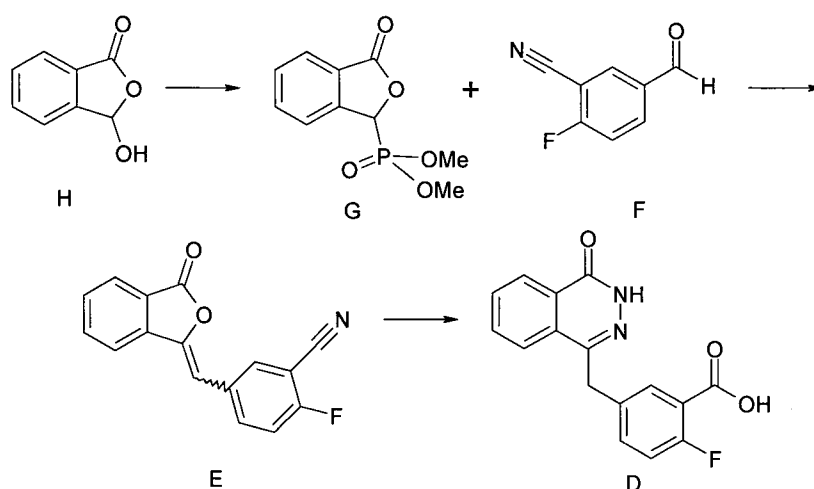
La sal del ácido mineral puede ser, por ejemplo, la sal clorhidrato.

La adición de 1-(ciclopropilcarbonil)piperazina, o una sal de un ácido mineral de la misma, al compuesto D se puede efectuar en cualquier solvente adecuado, por ejemplo, acetonitrilo. El agente de acoplamiento de amida es preferentemente hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU). Preferentemente a la solución de 1-(ciclopropilcarbonil)piperazina, o su sal de un ácido mineral, se agrega diisopropiletilamina y el compuesto D sobre un período de tiempo, por ejemplo 30 minutos. La temperatura de la solución resultante se puede

mantener a 25 °C o menos (o 20°C o menos, por ejemplo a 18°C). Después de su adición, la solución resultante se puede dejar en reposo por un período de tiempo. Un régimen de temperatura preferido comprende mantener la solución a temperatura ambiente por 2 horas.

El compuesto resultante A se puede eliminar de la solución por enfriamiento hasta por debajo de 10°C (o por debajo de 5°C, por ejemplo, 3°C) por un período de tiempo (por ejemplo 1 hora), seguido por filtración. El compuesto resultante A se puede lavar, por ejemplo, con acetonitrilo frío.

En WO 2004/080976, se describe la siguiente ruta para el compuesto D:



Se agregó dimetilfosfito por gotas a una solución de metóxido de sodio en metanol a 0°C. Luego se agregó 2-carboxibenzaldehído (H) por porciones a la mezcla de reacción como una lechada en metanol, manteniendo la temperatura debajo de 5°C. La solución de color amarillo claro resultante se calentó a 20°C sobre el transcurso de 1 hora. Se agregó ácido metansulfónico a la reacción por gotas y la suspensión blanca resultante se evaporó bajo vacío. El residuo blanco se neutralizó con agua y se extrajo en cloroformo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre MgSO₄ y se evaporaron bajo vacío para obtener dimetiléster del ácido (3-oxo-1,3-dihidro-isobenzofuran-1-il)fosfónico (G) como un sólido blanco (rendimiento: 95 %). Dicho sólido se usó luego sin purificación adicional en la etapa siguiente.

A una mezcla de dimetiléster del ácido (3-oxo-1,3-dihidro-isobenzofuran-1-il)fosfónico (G) en tetrahidrofurano y 2-fluoro-5-formilbenzonitrilo (F) en tetrahidrofurano se agregó trietilamina por gotas durante 25 min, manteniendo la

temperatura debajo de 15°C. La mezcla de reacción se calentó lentamente a 20°C durante 1 hora y se concentró bajo vacío. Se formó una lechada con el residuo blanco en agua por 30 minutos, se filtró, se lavó con agua, hexano y éter, y se secó para obtener 2-fluoro-5-(3-oxo-3H-isobenzofuran-1-ilidenmetil)benzonitrilo (E) como una mezcla 50:50 de isómeros E y Z (rendimiento: 96 %).

A una suspensión de 2-fluoro-5-(3-oxo-3H-isobenzofuran-1-ilidenmetil)benzonitrilo (E) en agua se agregó una solución acuosa de hidróxido de sodio y la mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno a 90°C por 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió parcialmente a 70°C, y se agregó hidrazina hidrato y se agitó durante 18 horas a 70°C. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se acidificó con HCl 2M a pH 4. La mezcla se agitó durante 10 minutos y se filtró. El sólido resultante se lavó con agua, hexano, éter, acetato de etilo y se secó para obtener el compuesto D como un polvo rosa claro (rendimiento: 77%).

También es deseable contar con un método de síntesis mejorado del compuesto D.

Por lo tanto un quinto aspecto de la presente invención provee un método para sintetizar el compuesto D, que comprende el paso de:

(a) sintetizar (3-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-1-il)fosfonato de dietilo (G') a partir de 2-carboxibenzaldehído (H);

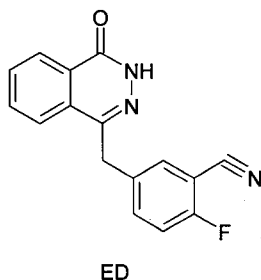
(b) sintetizar 2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-iliden)metil]benzonitrilo (E) a partir de (3-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-1-il)fosfonato de dietilo.

Se prefiere no aislar el compuesto G' en la síntesis. Este método evita el uso de la sal de sodio de dimetilfosfito porque es inestable (Pelchowicz, et al., *J.C hem. Soc*, 4348-4350 (1961)) en solución alcohólica. Se prefiere que el paso (a) tenga lugar en 2-metiltetrahidrofurano en el cual la sal de sodio del dietilfosfito es estable. Esta sal se puede formar *in situ* por adición de dietilfosfito a una solución enfriada de t-amilato de sodio en 2-metiltetrahidrofurano. Después de la reacción con la sal de sodio de dietilfosfito se puede conducir una reacción con ácido metansulfónico.

El paso (b) se puede conducir en 2-metiltetrahidrofurano, con la adición de trietilamina.

El método de síntesis del compuesto D puede comprender además el paso de:

(c) sintetizar 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzonitrilo (ED):

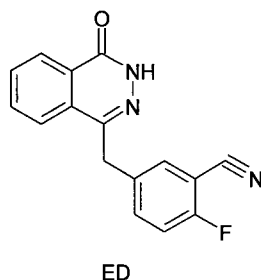


a partir del compuesto E por reacción con hidrazina hidratado; y

(d) sintetizar el compuesto D a partir del compuesto ED por reacción con hidróxido de sodio.

El paso (c) se puede conducir usando entre 1,1 y 1,3 equivalentes de hidrazina hidratado en tetrahidrofurano seguido por neutralización del exceso de hidrazina hidratado usando ácido acético.

Un sexto aspecto de la presente invención provee el compuesto ED:



y su uso en la síntesis del compuesto D.

Un aspecto adicional de la invención provee una sal de un ácido mineral de 1-(ciclopropilcarbonil)piperazina, y un método de síntesis de la misma por reacción de piperazina con ácido acético, seguido por adición de cloruro de ciclopropancarbonilo.

En un séptimo aspecto de la presente invención, se provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y un vehículo o un diluyente aceptable para uso farmacéutico.

Un octavo aspecto de la presente invención provee un compuesto del primer aspecto para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o de animales.

Un noveno aspecto de la presente invención provee el uso de un compuesto definido en el primer aspecto de la invención en la preparación de un medicamento para inhibir la actividad de PARP.

Otros aspectos de la invención proveen el uso de un compuesto definido en el primer aspecto de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento de: enfermedad vascular; shock séptico; lesión isquémica; neurotoxicidad; shock hemorrágico; infección viral; o enfermedades aliviadas por la inhibición de la actividad de PARP.

Otro aspecto adicional de la invención provee el uso de un compuesto definido en el primer aspecto de la invención en la preparación de un medicamento para su uso como un adjunto en la terapia de cáncer o para potenciar a células tumorales para su tratamiento con radiación ionizante o agentes quimioterapéuticos.

En otros aspectos adicionales de la invención se proporciona el tratamiento de enfermedades que mejoran con la inhibición de PARP, que comprende administrarle a un sujeto que necesita el tratamiento una cantidad eficaz para uso terapéutico de un compuesto según se definió en el primer aspecto, preferiblemente bajo la forma de una composición farmacéutica, y el tratamiento del cáncer, que comprende administrarle a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz para uso terapéutico de un compuesto según se define en el primer aspecto en combinación, preferiblemente bajo la forma de una composición farmacéutica, de forma simultánea o consecutiva con una radioterapia (radiación ionizante) o con agentes quimioterapéuticos.

En otros aspectos de la presente invención, los compuestos se pueden usar en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un tipo de cáncer en el que hay deficiencias en la actividad de reparación de ADN DSB dependientes de la recombinación homóloga (HR), o para el tratamiento de un paciente con un tipo de cáncer en el que hay deficiencias en la actividad de reparación de ADN DSB dependiente de HR, que comprende administrarle a dicho paciente una cantidad eficaz para uso terapéutico del compuesto.

La vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR repara rupturas en las cadenas dobles (DSB) del ADN a través de mecanismos homólogos, para volver a formar una hélice de ADN continua (K.K. Khanna y S.P. Jackson, *Nat. Genet.* 27(3):

247-254 (2001)). Los componentes de la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR incluyen, sin limitaciones, ATM (NM_000051), RAD51 (NM_002875), RAD51L1 (NM_002877), RAD51C (NM_002876), RAD51L3 (NM_002878), DMC1 (NM_007068), XRCC2 (NM_005431), XRCC3 (NM_005432), RAD52 (NM_002879), RAD54L (NM_003579), RAD54B (NM_012415), BRCA1 (NM_007295), BRCA2 (NM_000059), RAD50 (NM_005732), MRE11A (NM_005590) y NBS1 (NM_002485). Otras proteínas que participan en la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR incluyen factores reguladores, tales como EMSY (Hughes-Davies, et al., *Cell*, **115**, págs. 523-535). Los componentes de HR también se describen en Wood, et al., *Science*, **291**, 1284-1289 (2001).

Un tipo de cáncer en el que hay deficiencias en la reparación del ADN DSB dependiente de HR puede comprender o consistir en una o más células cancerosas con una capacidad reducida o anulada para reparar DSB del ADN a través de esta vía, en comparación con las células normales, es decir, la actividad de la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR puede estar reducida o anulada en las una o más células cancerosas.

La actividad de los uno o más componentes de la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR puede estar anulada en las una o más células cancerosas de un individuo que sufre de un tipo de cáncer en el que hay deficiencias en la reparación de ADN DSB dependiente de HR. Los componentes de la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR están bien caracterizados en la técnica (véase, por ejemplo, Wood, et al., *Science*, **291**, 1284-1289 (2001)) e incluyen los componentes indicados previamente.

En algunas realizaciones preferidas, las células cancerosas pueden tener un fenotipo de deficiencia de BRCA1 y/o BRCA2, es decir, la actividad de BRCA1 y/o BRCA2 se halla reducida o anulada en las células cancerosas. Las células cancerosas con este fenotipo pueden presentar deficiencias en BRCA1 y/o BRCA2, es decir, la expresión y/o la actividad de BRCA1 y/o BRCA2 puede estar reducida o anulada en las células cancerosas, por ejemplo, por una mutación o un polimorfismo en el ácido nucleico codificante, por la amplificación, la mutación o el polimorfismo de un gen que codifica un factor regulador, por ejemplo, el gen EMSY, que codifica un factor regulador de BRCA2 (Hughes-Davies, et al., *Cell*, **115**, 523-535).

BRCA1 y BRCA2 son supresores de tumores conocidos cuyos alelos tipo salvaje frecuentemente se pierden en los tumores de los portadores heterocigotas (Jasin M., *Oncogene*, **21(58)**, 8981-93 (2002); Tutt, et al., *Trends Mol Med.*, **8(12)**, 571-6, (2002)). La asociación de mutaciones en BRCA1 y/o BRCA2 con el cáncer de mama está bien caracterizada en la técnica (Radice, P.J., *Exp Clin Cancer Res.*, **21(3 Supl)**, 9-12 (2002)). También se sabe que la amplificación del gen EMSY, que codifica un factor de unión a BRCA2, está asociada con el cáncer de mama y de ovario.

Los portadores de mutaciones en BRCA1 y/o BRCA2 también presentan un riesgo elevado de cáncer de ovario, de próstata y de páncreas.

En algunas realizaciones preferidas, el individuo es heterocigota para una o más variaciones, tales como mutaciones y polimorfismos, en BRCA1 y/o BRCA2, o en un regulador de los mismos. La detección de variaciones en BRCA1 y BRCA2 es bien conocida en la técnica, y se describe, por ejemplo, en EP 699 754, EP 705 903, Neuhausen, S.L. y Ostrander, E.A., *Genet. Test*, **1**, 75-83 (1992); Chappnis, P.O. y Foulkes, W.D., *Cancer Treat Res*, **107**, 29-59 (2002); Janatova M., et al., *Neoplasma*, **50(4)**, 246-50 (2003); Jancarkova, N., *Ceska Gynekol.*, **68(1)**, 11-6 (2003)). La determinación de la amplificación del factor de unión a BRCA2, EMSY, se describe en Hughes-Davies, et al., *Cell*, **115**, 523-535).

Es posible detectar mutaciones y polimorfismos asociados con el cáncer a nivel de ácidos nucleicos, detectando la presencia de una variante de una secuencia de ácido nucleico, o a nivel de proteínas, detectando la presencia de una variante (es decir, un mutante o una variante alélica) de un polipéptido.

Descripción breve de las figuras

En la Fig. 1 se muestra la NMR del compuesto A después del tratamiento con agua (ejemplo 1);

En la Fig. 2 se muestra el patrón de XRD de polvo del compuesto A como la Forma A después del tratamiento con agua (ejemplo 1);

En la Fig. 3 se muestra un patrón de XRD de polvo representativo del compuesto A como la Forma A;

En la Fig. 4 se muestra un patrón de XRD de polvo representativo del compuesto A como la forma solvatada;

En la Fig. 5 se muestra un trazado de DSC representativo del compuesto A como la Forma A obtenido por calentamiento desde 25°C hasta 325°C a razón de 10°C por minuto.

Uso

La presente invención provee el compuesto A como la Forma A como un compuesto activo, específicamente, activo en la inhibición de la actividad de PARP.

El término “activo”, según se utiliza en la presente, se refiere al compuesto que es capaz de inhibir la actividad PARP. En los ejemplos que se detallan más adelante, se describe un ensayo que se puede usar convenientemente para evaluar la inhibición de PARP provista por el compuesto.

Además, en la presente invención se provee un método para inhibir la actividad de PARP en una célula, que comprende poner dicha célula en contacto con una cantidad eficaz de un compuesto activo, preferiblemente bajo la forma de una composición aceptable para uso farmacéutico. Este método se puede llevar a la práctica *in vitro* o *in vivo*.

Por ejemplo, se puede cultivar una muestra de células *in vitro*, luego se puede poner un compuesto activo en contacto con dichas células y observar el efecto del compuesto sobre dichas células. A modo de ejemplo de dicho “efecto”, se puede determinar la cantidad de reparación de ADN efectuada en un período de tiempo determinado. Cuando se observa que el compuesto activo ejerce algún efecto sobre las células, se puede lo emplear como marcador de pronóstico o diagnóstico de la eficacia del compuesto en los métodos para tratar un paciente portador de células del mismo tipo celular.

El término “tratamiento”, como se lo usa en la presente, en el contexto del tratamiento de una condición, en general hace referencia a un tratamiento o una terapia, ya sea de un ser humano o de un animal (por ejemplo en aplicaciones veterinarias), en donde se consigue un efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la condición, e incluye una reducción en la velocidad del progreso, un alto en el índice de progreso, una mejora de la condición y la cura de la

condición. El tratamiento también se incluye como una medida profiláctica (es decir, profilaxis).

El término “adjunto”, como se lo usa en la presente, se relaciona con el uso de los compuestos activos junto con medidas terapéuticas conocidas. Tales medidas incluyen regímenes citotóxicos de drogas y/o radiación ionizante como las que se utilizan en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer. En particular, se sabe que los compuestos activos potencian las acciones de numerosos tratamientos quimioterapéuticos de cáncer, que incluyen la clase de venenos de topoisomerasa (por ejemplo, topotecan, irinotecán, rubitecán), la mayoría de los agentes alquilantes conocidos (por ejemplo, DTIC, temozolamida) y drogas basadas en platino (por ejemplo, carboplatino, cisplatino) usados en el tratamiento de cáncer.

El compuesto activo se puede usar además como un aditivo de cultivos celulares para inhibir a PARP, por ejemplo, con el objetivo de sensibilizar las células a agentes quimioterapéuticos o a tratamientos de radiación conocidos *in vitro*.

El compuesto activo también se puede usar como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, con el fin de determinar si un huésped candidato puede beneficiarse con un tratamiento con el compuesto en cuestión.

Administración

El compuesto activo, o la composición farmacéutica que comprende al compuesto activo, puede administrarse a un sujeto por cualquier ruta de administración conveniente, ya sea sistemáticamente/periféricamente o en el sitio de acción deseado, incluyendo las vías, en un sentido no limitativo, oral (por ejemplo por ingestión); tópica (incluyendo, por ejemplo, transdérmica, intranasal, ocular, bucal y sublingual); pulmonar (por ejemplo por inhalación o terapia de insuflado usando, por ejemplo un aerosol, por ejemplo a través de la boca o la nariz); rectal; vaginal; parenteral, por ejemplo, mediante inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoidea y intraesternal; mediante el implante de un depósito, por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente.

El sujeto puede ser un eucariota, un animal, un animal vertebrado, un mamífero, un roedor (por ejemplo un cobayo, un hámster, una rata, un ratón), murino

(por ejemplo un ratón), canino (por ejemplo un perro), felino (por ejemplo un gato), equino (por ejemplo un caballo), un primate, simio (por ejemplo un mono o simio), un mono (por ejemplo tití, mandril), un simio (por ejemplo gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano.

Formulaciones

A pesar de que es posible administrar el compuesto activo solo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica (por ejemplo como una formulación) que comprenda al compuesto activo, definido previamente, junto con uno o más vehículos, adyuvantes, excipientes, diluyentes, rellenos, amortiguadores, estabilizantes, conservantes, lubricantes u otros materiales aceptables para uso farmacéutico bien conocidos por los especialistas en la técnica y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Así, la presente invención provee además composiciones farmacéuticas, definidas precedentemente, y métodos para elaborar una composición farmacéutica que comprende mezclar el compuesto activo, definido precedentemente, junto con uno o más vehículos, excipientes, soluciones amortiguadoras, adyuvantes, estabilizadores u otros materiales aceptables para uso farmacéutico, descritos en la presente, de modo tal que el compuesto activo permanece como la forma cristalina A.

El término "aceptable para uso farmacéutico", tal como se usa en la presente, hace referencia a compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico actual, apropiadas para usar en contacto con los tejidos del sujeto (por ejemplo, humano), sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesivas, u otro problema o complicación, de acuerdo con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, excipiente, etc., debe ser también "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación.

Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados se pueden consultar en los textos farmacéuticos estándar. Véase, por ejemplo, "Handbook of Pharmaceutical Additives", 2ª Edición (eds. M. Ash y I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, Nueva York, EE.UU.), "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20ª edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2ª edición, 1994.

Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en formas de dosificación unitarias y se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en el arte de la farmacia. Dichos métodos incluyen el paso de asociar el compuesto activo con el vehículo que constituye uno o más de los ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme e íntima el compuesto activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si fuera necesario, dándole forma al producto.

Las formulaciones se pueden encontrar en la forma de suspensiones, tabletas, gránulos, polvos, cápsulas, obleas, píldoras o pastas.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral (por ejemplo, por ingestión) se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o tabletas, cada una de las cuales contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo; como un polvo o gránulos; como una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una pasta.

Una tableta se puede elaborar mediante medios convencionales, por ejemplo, compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar mediante compresión, en una máquina apropiada, del compuesto activo en la forma de un flujo libre como polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con uno o más aglutinantes (por ejemplo povidona, gelatina, acacia, sorbitol, tragacanto, hidroxipropilmetilcelulosa); rellenos o diluyentes (por ejemplo lactosa, celulosa microcristalina, fosfato diácido de calcio); lubricantes (por ejemplo estearato de magnesio, talco, sílica); desintegradores (por ejemplo glicolato sódico de almidón, povidona entrecruzada, carboximetilcelulosa sódica entrecruzada); agentes tensioactivos o dispersantes o humectantes (por ejemplo laurilsulfato de sodio); y conservantes (por ejemplo p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de propilo, ácido sórbico). Se pueden preparar tabletas moldeadas efectuando un moldeo de una mezcla del compuesto en polvo, humedecido con un diluyente líquido inerte, en una máquina apropiada. Opcionalmente, las tabletas pueden estar recubiertas o ranuradas, y pueden estar formuladas de manera de proveer una liberación baja o controlada del compuesto activo, usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para obtener el perfil de liberación deseado. Las tabletas se pueden proveer, opcionalmente, con un recubrimiento entérico para proveer liberación en partes del tracto digestivo distintas del estómago.

Una cápsula puede incluir al compuesto activo en suspensión.

Las formulaciones adecuadas para una administración tópica (por ejemplo transdérmica, intranasal, ocular, bucal y sublingual) se pueden formular como una pasta.

Las formulaciones apropiadas para una administración tópica en el ojo también pueden incluir gotas oftalmológicas en donde se suspende el compuesto activo en un vehículo apropiado, especialmente en un solvente acuoso para el compuesto activo.

Las formulaciones apropiadas para una administración nasal, en donde el vehículo es un sólido, incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el rango entre aproximadamente 20 y aproximadamente 500 micrones, que se administra de manera que el polvo se toma, o sea mediante inhalación rápida a través del pasaje nasal desde el recipiente del polvo, sostenido cerca de la nariz.

Las formulaciones apropiadas para una administración por inhalación incluyen aquellas que se presentan como atomización en aerosol en un paquete presurizado, con el uso de un propelente apropiado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otros gases apropiados.

Dosificación

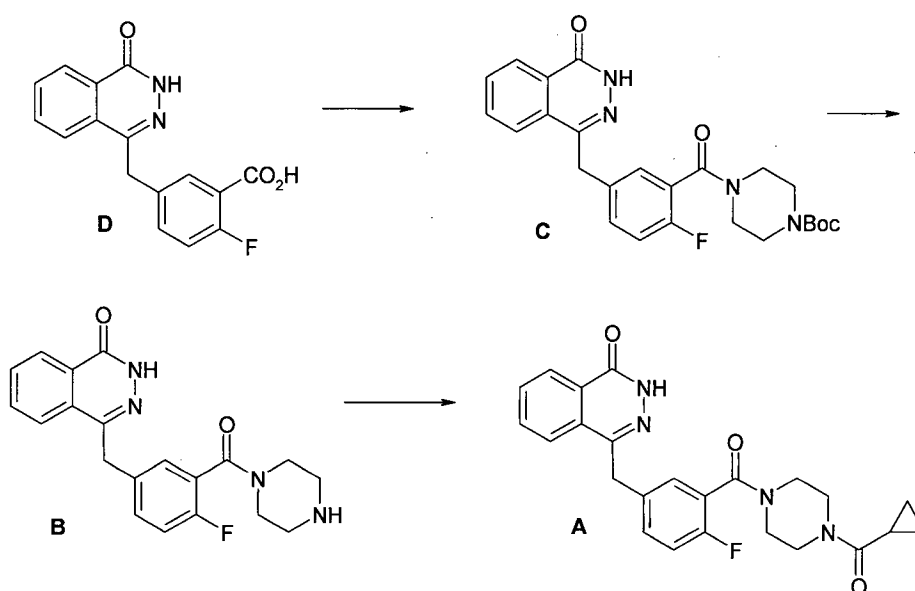
Se apreciará que las formas de dosificación apropiadas de los compuestos activos y las composiciones que comprenden a los compuestos activos pueden variar de un paciente a otro. La determinación de la dosis óptima comprende en general un balance entre el nivel de beneficio terapéutico y cualquier riesgo o efecto secundario deletéreo de los tratamientos de la presente invención. El nivel de la forma de dosificación seleccionada dependerá de una variedad de factores que incluyen, pero en un sentido no limitativo, la actividad del compuesto particular, la ruta de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otras drogas, compuestos y/o materiales que se usen en combinación, y la edad, sexo, peso, condición, salud general e historia médica previa del paciente. La cantidad del componente y la ruta de administración estarán finalmente a discreción del médico, aunque en general la dosis deberá servir para conseguir concentraciones locales en el sitio de acción que permitan alcanzar el efecto deseado sin causar un daño sustancial o efectos secundarios deletéreos.

La administración *in vivo* se puede efectuar en una sola dosis, de manera continua o intermitente (por ejemplo en dosis divididas a intervalos apropiados) durante el transcurso del tratamiento. Los métodos para determinar la manera y la dosis de administración más efectiva, son bien conocidos por los especialistas en la técnica, y variarán con la formulación empleada en la terapia, el propósito de la terapia, la célula blanco bajo tratamiento y el paciente que se esté tratando. Se pueden efectuar administraciones simples o múltiples con el nivel de dosis y el patrón elegido por el médico tratante.

En general, una dosis adecuada del compuesto activo se encuentra en el rango entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 600 mg por m² de peso por área corporal del sujeto por día.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis del compuesto A



El material de partida (**D**) se sintetizó según el método descrito en WO 2004/080976

Métodos

HPLC preparativa

Se purificaron muestras con un sistema de purificación en base a la masa Waters utilizando una bomba Waters 600 LC, una columna Waters Xterra C18 (5 µm 19 mm x 50 mm) y un espectrómetro de masa Micromass ZQ, que opera en la

modalidad de ionización por electroatomización de ion positivo. Las fases móviles A (ácido fórmico al 0,1% en agua) y B (ácido fórmico al 0,1% en acetonitrilo) se usaron en un gradiente; 5% de B a 100% sobre un período de 7 min, retención durante 3 min, a una velocidad de flujo de 20 ml/ min.

HPLC-MS analítica

La HPLC analítica se realizó con una bomba Spectra System P4000 y una columna Jones Genesis C18 (4 μ m, de 50 mm x 4,6 mm). Las fases móviles A (ácido fórmico al 0,1% en agua) y B (acetonitrilo) se usaron en un gradiente de 5% de B durante 1 min aumentando a 98% de B luego de 5 min, retención durante 3 min a una velocidad de flujo de 2 ml / min. En la detección se empleó un detector TSP UV 6000LP a 254 nm UV y un rango de 210-600 nm de PDA. El espectrómetro de masa era un equipo Finnigan LCQ que operaba en modalidad de electroatomización de ion positivo.

NMR

Los espectros de ^1H NMR se registraron usando un espectrómetro Bruker DPX 300 a 300 MHz. Los desplazamientos químicos se informaron en partes por millón (ppm) en la escala δ , con respecto a tetrametilsilano como referencia interna. A menos que se indique lo contrario, todas las muestras se disolvieron en DMSO- d_6 .

(a) ter-butiléster del ácido 4-[2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihidro-ftalazin-1-ilmetil)-benzoil]-piperazin-1-carboxílico (C)

A una solución agitada del material de partida **D** (850 g) en dimetilacetamida (DMA) (3561 ml) a temperatura ambiente bajo nitrógeno se agregó HBTU (hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) (1402 g) en una porción. Luego se agregó base de Hünig ($i\text{Pr}_2\text{NEt}$, 1096 ml), manteniendo la temperatura entre 15 y 25°C, seguido por una solución de 1-Boc-piperazina (637 g) en DMA (1428 ml), manteniendo la temperatura entre 15 y 25°C.

La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se tomaron muestras para verificar si se había formado la solución (HPLC). Una vez completada, la solución se agregó a agua vigorosamente agitada (17085 ml) manteniendo la temperatura entre 15 y 25°C y el sólido se separó por filtración, se lavó con agua (2 x 7131 ml), hexano (2 x 7131 ml) y metil-ter-butiléter (MTBE) (2 x 3561 ml). El sólido se

secó después durante la noche y luego se tomaron muestras para determinar contenido de agua y pureza química.

Esta reacción se repitió otra vez, véase la tabla:

Lote	Rendimiento (g)	Pureza (%Área HPLC)	Contenido de agua (K.F.)	Rendimiento corregido
1	1571,3	86,80	24,3	1032,5 g (78%)
2	2781,6	85,00	40,3	1411,5 g (106%)

a. Más de un 100% de rendimiento atribuido a un muestreo no representativo

(b) 4-[4-fluoro-3-(piperazin-1-carbonil)-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (B)

A una solución agitada de alcoholes metilados industriales (IMS) (2200 ml) y HCl concentrado (4400 ml) se agregó el compuesto **C** (2780,2 g) por porciones a temperatura ambiente bajo nitrógeno, controlándose la formación de espuma con la velocidad de adición. La solución se agitó luego a una temperatura entre 15 y 25°C por 30 minutos y se tomaron muestras para verificar si se había formado la solución (HPLC).

Una vez completada, la solución se evaporó para eliminar todo IMS y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ (2 x 3500 ml) antes de ajustar el pH en >8 usando amoníaco concentrado. La lechada resultante se diluyó luego con agua (10000 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (4 x 3500 ml), se lavó con agua (2 x 2000 ml), se secó sobre MgSO₄ (250g) y se evaporó. Después se formó una lechada con el producto crudo en CH₂Cl₂ (3500 ml) y se agregó al MTBE (5000 ml). La suspensión resultante se filtró y se secó a 50°C durante la noche obteniéndose 611,0 g (58,5% de rendimiento) de material con una pureza del 94,12%

(c) 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (A)

A una suspensión agitada del compuesto **B** (1290 g) en CH₂Cl₂ (15480 ml) bajo nitrógeno se agregó una solución premezclada de trietilamina (470 ml) y cloruro de ciclopropancarbonilo (306 ml) en CH₂Cl₂ (1290 ml) por gotas manteniendo la

temperatura debajo de 20°C. La solución se agitó luego a 10-15°C durante 15 minutos y se tomaron muestras para verificar si se había formado la solución. Se encontró que la mezcla de reacción solamente contenía 1,18% de material de partida **B** y entonces se consideró que se había completado la reacción y el lote fue sometido a aislamiento y purificación.

La mezcla de reacción se lavó con agua (7595 ml), solución de ácido cítrico al 5% (7595 ml), solución de carbonato de sodio al 5% (7595 ml) y agua (7595 ml). Luego se secó la capa orgánica sobre sulfato de magnesio (500 g).

Después se aisló la capa de producto que contiene CH_2Cl_2 , se filtró a través de Celite y se cargó en un recipiente de 25 l. A continuación se separó CH_2Cl_2 (8445 ml) por destilación a presión atmosférica y se agregó etanol (10000 ml). Se continuó con la destilación con cada 4000 ml de destilado que era eliminado reemplazándolos por etanol (4000 ml) hasta alcanza la temperatura de la cabeza 73,7°C. Luego se redujo el volumen de reacción (a 7730 ml) y para entonces la temperatura de la cabeza había alcanzado 78,9°C y a continuación se dejó que la solución se enfriara a 8°C durante la noche. Luego se separó el sólido por filtración, se lavó con etanol (1290 ml) y se secó a 70°C durante la noche.

Rendimiento = 1377,3 g (90%). Pureza por HPLC (99,34% [% área]). Contenía 4,93% de etanol y 0,45% de CH_2Cl_2 por GC.

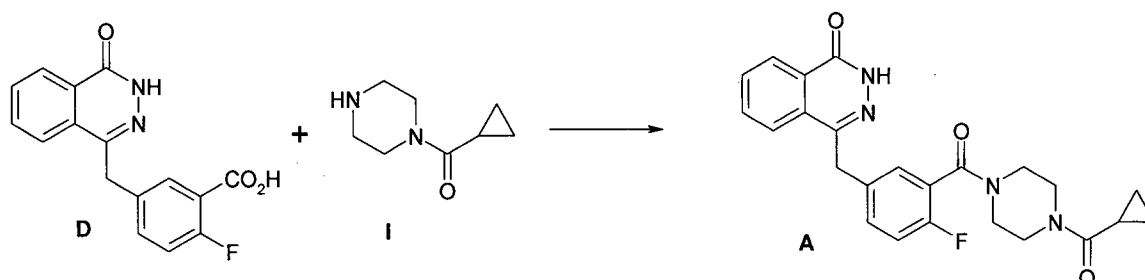
(d) Tratamiento con agua del compuesto A

Se calentó a reflujo una suspensión del compuesto A (1377,0 g), producida mediante el método del Ejemplo 1, en agua (13770 ml) durante 4 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El sólido se lavó con agua (2754 ml) y se secó a 70°C durante la noche.

Rendimiento = 1274,8 g (92,6%). Pureza por HPLC (99,49% [% área]). Contenía 0,01% de etanol y 0,01% de CH_2Cl_2 por GC.

El espectro de ^1H NMR del compuesto A (DMSO- d_6) después del tratamiento con agua se muestra en la Figura 1.

El patrón de XRD de polvo del compuesto A después del tratamiento con agua se muestra en la Figura 2, donde se muestra que el compuesto se encuentra como la Forma A.

Ejemplo 2:**Síntesis alternativa del compuesto A usando 1-(ciclopropilcarbonil)-piperazina**

Métodos (también para los ejemplos 3 y 4)

NMR

Los espectros de ^1H NMR se registraron usando un espectrómetro Bruker DPX 400 a 400 MHz. Los desplazamientos químicos se informaron en partes por millón (ppm) en la escala δ , con respecto a tetrametilsilano como referencia interna. A menos que se indique lo contrario, todas las muestras se disolvieron en DMSO- d_6 .

Espectros de masa

Los espectros de masa se registraron con un espectrómetro de masa con trampa de iones Agilent XCT usando espectrometría de masa en tándem (MS/MS) para confirmar la estructura. El instrumento se operó en la modalidad de electroatomización de ion positivo.

(a) 4-[3-(4-ciclopropancarbolil-piperazin-1-carbolil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (Compuesto A)

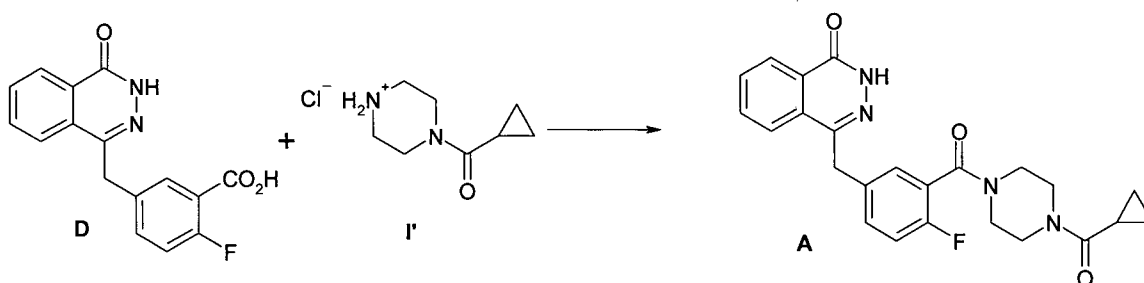
Se suspendió ácido 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzoico (D) (15,23 g, 51,07 mmol) bajo agitación y bajo nitrógeno en acetonitrilo (96 ml). Se agregó diisopropiletilamina (19,6 ml, 112,3 mmol) seguido por 1-ciclopropilcarbonilpiperazina (I) (9,45 g, 61,28 mmol) y acetonitrilo (1 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 18 °C. Se agregó hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-tetrametiluronio (25,18 g, 66,39 mmol) durante 30 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió a 3°C y se mantuvo a esta temperatura durante 1 hora, antes de filtrarla. La torta de filtrado se lavó con acetonitrilo frío (3°C) (20 ml) antes de secarla bajo vacío a una temperatura de hasta 40°C para obtener el compuesto del título como un sólido

amarillo claro (20,21 g).

Espectro de masa: MH+ 435

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 0,70 (m, 4H); 1,88 (br s, 1H); 3,20 (br s, 2H); 3,56 (m, 6H); 4,31 (s, 2H); 7,17 (t, 1H); 7,34 (dd, 1H); 7,41 (m, 1H); 7,77 (dt, 1H); 7,83 (dt, 1H); 7,92 (d, 1H); 8,25 (dd, 1H); 12,53 (s, 1H).

Ejemplo 3: Síntesis alternativa del compuesto A usando la sal HCl de 1-(ciclopropilcarbonil) piperazina



(a) Sal HCl de 1-(ciclopropilcarbonil)piperazina (I')

Se trató ácido acético (700 ml) con piperazina (50,00 g, 0,581 mol) por porciones durante 15 minutos bajo agitación y bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 40°C y se mantuvo a esta temperatura hasta obtener una solución completa. Se agregó cloruro de ciclopropancarboxilo (59,2 ml, 0,638 mol) durante 15 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se destiló bajo presión reducida hasta que se habían recolectado ~430 ml de destilado. Se cargó tolueno (550 ml) en la mezcla de reacción y se continuó con destilación a presión reducida hasta recolectar otros 400 ml de destilado. Se agregó una carga adicional de tolueno (550 ml) y se continuó con destilación a presión reducida hasta recolectar 350 ml de destilado. La lechada resultante se diluyó con tolueno (200 ml) y se agitó durante la noche. Se agregó tolueno adicional (500 ml) con el fin de movilizar la lechada. La lechada se filtró, se lavó con tolueno (100 ml) y se secó bajo vacío a 40°C para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (86,78 g).

Espectro de masa: MH+ 155

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ : 0,92 (m, 4H); 1,98 (m, 1H); 3,29 (m, 2H); 3,38 (m, 2H); 3,84 (m, 2H); 4,08 (m, 2H).

(b) *Compuesto A*

Se suspendió ácido 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzoico (D)(0,95 g, 3,19 mmol) bajo agitación y bajo nitrógeno en acetonitrilo (4 ml). Se agregó hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU) (1,45 g, 3,83 mmol) seguido por sal HCl de 1-ciclopropilcarbonilpiperazina (I')(0,73 g, 3,83 mmol). Se agregó diisopropiletilamina (1,39 ml, 7,98 mmol) durante 3 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió a 5°C y se mantuvo a esta temperatura durante 1 hora, antes de filtrarla. La torta de filtrado se lavó con acetonitrilo frío (3°C) (2 ml) antes de secarla bajo vacío a una temperatura de hasta 40°C para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo claro (0,93 g).

(c) *Recristalización del compuesto A a partir de metanol acuoso*

Se suspendió el compuesto A (9,40 g, 21,64 mmol) del paso (b) en una mezcla de agua (100 ml) y metanol (120 ml). La suspensión se calentó a reflujo bajo agitación. La solución turbia producida se enfrió luego a 60°C y se filtró a través de un lecho de Harborlite. El lecho filtrante se lavó con una mezcla de agua (5 ml) y metanol (5 ml). El filtrado se destiló a presión atmosférica hasta recolectar 115 ml de destilado. Luego se detuvo la destilación y se dejó que la suspensión producida se enfriara hasta temperatura ambiente. La suspensión resultante se agitó durante ~18 horas antes de filtrarla. La torta de filtrado se lavó con agua (20 ml), antes de secarla bajo vacío a una temperatura de hasta 60°C para obtener el compuesto del título en la Forma A como un sólido blanco (8,67 g).

Espectro de masa: MH⁺ 435

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 0,70 (m, 4H); 1,88 (br s, 1H); 3,20 (br s, 2H); 3,56 (m, 6H); 4,31 (s, 2H); 7,17 (t, 1H); 7,34 (dd, 1H); 7,41 (m, 1H); 7,77 (dt, 1H); 7,83 (dt, 1H); 7,92 (d, 1H); 8,25 (dd, 1H); 12,53 (s, 1H),

(d) *Recristalización del compuesto A a partir de etanol acuoso*

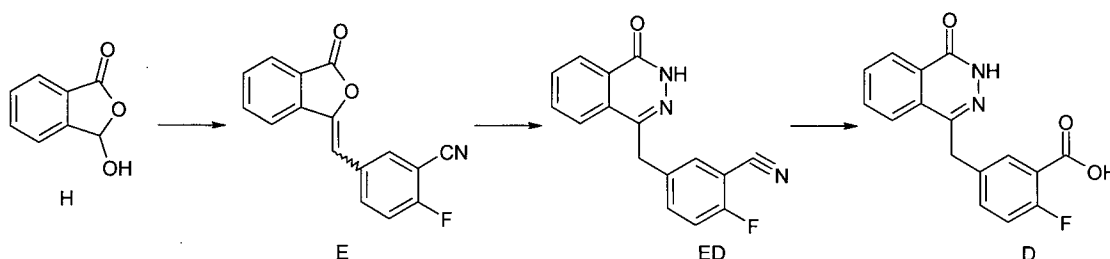
Se suspendió el compuesto A (9,40 g, 21,64 mmol) del paso (b) en una mezcla de agua (100 ml) y etanol (50 ml). La suspensión se calentó a reflujo bajo agitación. La solución turbia producida se enfrió luego a 60°C y se filtró a través de un lecho de Harborlite. El lecho filtrante se lavó con una mezcla de agua (5 ml) y etanol (5 ml). El

filtrado se destiló a presión atmosférica hasta recolectar 53 ml de destilado. Luego se detuvo la destilación y se dejó que la suspensión producida se enfriara hasta temperatura ambiente. La suspensión resultante se agitó durante ~18 horas antes de filtrarla. La torta de filtrado se lavó con agua (20 ml), antes de secarla bajo vacío a 60°C para obtener el compuesto del título en la Forma A como un sólido blanco (8,74 g).

Espectro de masa: MH+ 435

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 0,70 (m, 4H); 1,88 (br s, 1H); 3,20 (br s, 2H); 3,56 (m, 6H); 4,31 (s, 2H); 7,17 (t, 1H); 7,34 (dd, 1H); 7,41 (m, 1H); 7,77 (dt, 1H); 7,83 (dt, 1H); 7,92 (d, 1H); 8,25 (dd, 1H); 12,53 (s, 1H).

Ejemplo 4: Síntesis alternativa del compuesto D



(a) 2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-iliden)metil]benzonitrilo (E)

Se enfriaron t-amilato de sodio (99,00 g, 0,854 mol) y 2-metiltetrahidrofurano (960 ml) hasta 2°C bajo atmósfera de nitrógeno. Se agregó dietilfosfito (110 ml, 0,855 mol) por gotas manteniendo la temperatura a <5°C. Se agregó 2-metiltetrahidrofurano (40 ml) como lavado de la línea. La reacción se agitó a 2°C durante 1 hora y 40 minutos. Se agregó una solución de 2-carboxibenzaldehído (H) (80 g, 0,533 mol) en 2-metiltetrahidrofurano (200 ml), manteniendo la temperatura a <7°C durante toda la adición. Se agregó 2-metiltetrahidrofurano como lavado de la línea (40 ml). La mezcla de reacción se calentó a 20°C y se mantuvo a 20°C durante 20 minutos. Se agregó ácido metansulfónico (66 ml, 1,01 mol) durante 1 hora y 10 minutos, seguido por 2-metiltetrahidrofurano (40 ml). La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante la noche. Se agregó ácido metansulfónico (7 ml, 0,101 mol), seguido por 2-metiltetrahidrofurano (7 ml) y la reacción se agitó a 20°C durante otras 4 horas. Se agregó agua (400 ml) a temperatura ambiente y la mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se eliminó la capa acuosa inferior y se agregó una solución de bicarbonato de potasio (53,50 g, 0,534 mol) en agua (400 ml)

a la capa orgánica. La mezcla bifásica se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos y luego se eliminó la solución acuosa inferior. Se retuvo la fracción orgánica (solución de (3-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-1-il)fosfonato de dietilo). Se agregó 2-fluoro-5-formilbenzonitrilo (64 g, 0,429 mol) a la fracción orgánica y la mezcla se agitó a 20°C. Se agregó trietilamina (66 ml, 0,473 mol) por gotas seguido por 2-metiltetrahydrofurano (7 ml). La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante la noche, luego se enfrió a 5°C, se filtró, se lavó con alcohol metilado industrial (480 ml) y luego se secó bajo vacío a una temperatura de hasta 40°C para obtener el compuesto del título (91,2 g).

Espectro de masa: MH+ 266

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 6,89 (s, 1H, isómero principal); 6,94 (s, 1H, isómero menor); 7,40 (dd, 1H, isómero menor); 7,58 (t, 1H, ambos isómeros); 7,70 (t, 1H, ambos isómeros); 7,89 (t, 1H, ambos isómeros); 7,95 (d, 1H, ambos isómeros); 8,05 (d, 1H, ambos isómeros); 8,15 (m, 2H, isómero principal).

(b) 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzonitrilo (ED)

Se agitaron 2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-iliden)metil]benzonitrilo (E)(20 g, 75,40 mmol) y tetrahydrofurano (200 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante 30 minutos. Se agregó hidrazina monohidrato (4,40 ml, 90,53 mmol), seguido por tetrahydrofurano como lavado de la línea (4 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y 45 minutos. Se agregó ácido acético (1,10 ml, 19,20 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 60°C. La mezcla de reacción se mantuvo a 60°C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a 50°C y se agregó agua (200 ml) por gotas. La temperatura se mantuvo a 45°C durante toda la adición. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C, se filtró, se lavó con una mezcla de agua (30 ml) y tetrahydrofurano (30 ml), y luego se secó bajo vacío a una temperatura de hasta 40°C para obtener el compuesto del título (18,7 g).

Espectro de masa: MH+ 280

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,38 (s, 2H); 7,46 (t, 1H); 7,72 (m, 1H); 7,85 (dt, 1H); 7,92 (m, 2H); 7,99 (d, 1H); 8,27 (dd, 1H); 12,57 (s, 1H).

(c) Ácido 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzoico (D)

Se agitaron 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzonitrilo (ED) (9,60 g, 34,37 mmol) y agua (40 ml) a 20°C. Se agregó hidróxido de sodio 2M (36 ml, 72,00 mmol), la mezcla de reacción se calentó a 90°C y se mantuvo a esta temperatura durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El lecho filtrante se lavó con agua (10 ml) y el filtrado combinado se agregó a HCl 2M (56 ml, 112,00 mmol) a 60°C durante 40 minutos. La suspensión resultante se enfrió a 50°C y se filtró, se lavó con agua (57 ml) y se secó bajo vacío a una temperatura de hasta 60°C para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (9,72 g).

Espectro de masa: MH+ 299

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 4,36 (s, 2H); 7,24 (dd, 1H); 7,59 (m, 1H); 7,84 (dt, 2H); 7,90 (dt, 1H); 7,98 (d, 1H); 8,27 (dd, 1H); 12,59 (s, 1H); 13,22 (br s, 1H).

Ejemplo 5: Recristalización del compuesto A a partir de etanol acuoso

Se suspendió 4-(3-[[4-(ciclopropilcarbonil)piperazin-1-il]carbonil]-4-fluorobencil)ftalazin-1(2H)-ona (compuesto A) (20,00 g, 44,66 mmol) en una mezcla de agua (50 ml) y etanol (150 ml). La suspensión se calentó a reflujo bajo agitación. La solución producida se enfrió luego a 70°C y se filtró. El lecho filtrante se lavó con una mezcla de agua (8 ml) y etanol (22 ml).

El filtrado se enfrió a 45°C bajo agitación. Se agregó 4-(3-[[4-(ciclopropilcarbonil)piperazin-1-il]carbonil]-4-fluorobencil)ftalazin-1(2H)-ona (Compuesto A) en la Forma A (0,08 g) con el fin de sembrar la mezcla. La suspensión resultante se enfrió a 20°C sobre un período de 2,5 horas y se agitó a esta temperatura durante 16 horas adicionales con el fin de establecer la cristalización. Se agregó agua (200 ml) durante 5 horas manteniendo la temperatura a 20°C. Al final de la adición, la suspensión se mantuvo a 20°C durante 2 horas.

La suspensión se filtró y la torta de filtrado se lavó con una mezcla de etanol (24 ml) y agua (56 ml). El sólido aislado se descargó y se secó bajo vacío a 40-60°C, para obtener el compuesto del título (Forma A) como un sólido blancuzco (18,1 g).

Métodos para obtener las Figuras 3 de 5

XRD de polvo: Figura 3 (compuesto A como la Forma A)

La difracción por rayos X de polvo se registró con un difractómetro Bruker D5000 (fuente de Cu de 1,5418 Å de longitud de onda de rayos X, Voltaje 40 kV, emisión del filamento 40 mA). Las muestras fueron barridas entre 2-40° 2θ usando un ancho de paso de 0,02° y una cuenta de tiempo de 4 segundos.

XRD de polvo: Figura 4 (compuesto A como la forma solvatada)

La difracción por rayos X de polvo de la familia de solvatos se registró con un difractómetro Inel XRG-3000 (fuente de Cu de 1,5418 Å de longitud de onda de rayos X, Voltaje 40 kV, emisión del filamento 30 mA), equipado con un detector curvo sensible a la posición (rango 120° 2θ). Las muestras fueron barridas entre 2,5-40° 2θ usando un ancho de paso de 0,03° típicamente con un tiempo de recolección total de 300 s.

Calorimetría por barrido diferencial (DSC): Figura 5

La DSC se registró usando un equipo Mettler DSC820E con sistema robótico TSO801RO. Típicamente, se calentó menos que 5 mg de material, contenido en una bandeja de aluminio de 40 µl equipado con una tapa perforada, sobre un rango de temperatura desde 25°C hasta 325°C a una velocidad de calentamiento constante de 10°C por minuto. Se usó purga de nitrógeno gaseoso con una velocidad de flujo de 100 ml por minuto.

Ejemplo 6

Acción inhibidora

Con el fin de evaluar la acción inhibidora del compuesto activo, se utilizó el siguiente ensayo para determinar el valor de IC₅₀.

Se incubó PARP de mamífero, aislada a partir de extractos nucleares de células HeLa, con solución amortiguadora Z (Hepes 25 mM (Sigma); MgCl₂ 12,5 mM (Sigma); KCl 50 mM (Sigma); DTT 1 mM (Sigma); glicerol 10% (Sigma) NP-40 0,001% (Sigma); pH 7,4) en placas Flash de 96 cavidades (marca registrada) (NEN, Reino Unido), y se agregaron concentraciones variables de dichos inhibidores. Todos los compuestos se diluyeron en DMSO, y se proporcionaron en concentraciones de ensayo finales de entre 10 y 0,01 µM, donde el DMSO se administró a una concentración final de 1% por cavidad. El volumen de ensayo total por cavidad fue de 40 µl.

Después de 10 minutos de incubación a 30 °C, se iniciaron las reacciones agregando una mezcla de reacción de 10 µl, que contenía NAD (5 µM), ³H-NAD y oligos de ADN de cadena doble 30-mers. Las cavidades de reacción positivas y negativas designadas se procesaron en combinación con las cavidades con compuesto (desconocidas), con el fin de calcular el % de actividad enzimática. Luego se agitaron las placas por 2 minutos, y se incubaron a 30 °C durante 45 minutos.

Después de la incubación, las reacciones se detuvieron agregando 50 µl de ácido acético al 30% a cada cavidad. Las placas se agitaron posteriormente por 1 hora a temperatura ambiente.

Las placas se transfirieron a un dispositivo TopCount NXT (marca registrada) (Packard, Reino Unido) para efectuar el recuento de centelleo. Los valores registrados son cuentas por minuto (cpm), después de realizar un recuento de 30 segundos en cada cavidad.

El % de actividad enzimática para cada compuesto se calcula posteriormente usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = 100 - \left(100 \times \frac{(\text{cpm desconocidas} - \text{cpm negativo media})}{(\text{cpm positivas media} - \text{cpm negativos media})} \right)$$

Se calcularon los valores de IC₅₀ (la concentración con la cual se inhibe el 50% de la actividad enzimática), que se determinan para un rango de concentraciones diferentes, normalmente entre 10 µM y 0,001 µM. Estos valores de IC₅₀ se usan como valores comparativos para identificar las potencias incrementadas de los compuestos.

El compuesto A tiene un valor de IC₅₀ de 5 nM aproximadamente.

Factor de potenciación

El factor de potenciación (PF₅₀) para el compuesto activo se calcula como una relación entre la IC₅₀ del crecimiento celular control, dividido por la IC₅₀ del crecimiento celular + inhibidor de PARP. Las curvas de inhibición para las células control y las células tratadas con compuesto se efectuaron en presencia del agente alquilante metansulfonato de metilo (MMS). El compuesto de prueba se usó a una concentración fija de 0,2 micromolar. Las concentraciones de MMS abarcaron un rango entre 0 y 10 µg/ml.

El crecimiento de las células se evaluó usando un ensayo con sulforrodamina B (SRB) (Skehan, P., et al., (1990) *New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening*. J. Natl. Cancer Inst. **82**, 1107-1112). Se sembraron 2.000 células HeLa en cada cavidad de una placa para microtitulación de 96 cavidades de fondo plano en un volumen de 100 μ l y se incubaron durante 6 horas a 37°C. Las células fueron reemplazados por medio solamente o por medio que contiene un inhibidor de PARP a una concentración final de 0,5, 1 ó 5 μ M. Se dejó que las células crecieran durante 1 hora más antes de agregar MMS a un rango de concentraciones (típicamente 0, 1, 2, 3, 5, 7 y 10 μ g/ml), a las células no tratadas o a las células tratadas con inhibidor de PARP. Las células tratadas con el inhibidor de PARP solamente se usaron para evaluar la inhibición del crecimiento por el inhibidor de PARP.

Las células se incubaron durante otras 16 horas, antes de reemplazar el medio y permitir que las células se desarrollaran por otras 72 horas a 37°C. Luego se eliminó el medio y se fijaron las células con 100 μ l de ácido tricloroacético helado al 10% (p/v). Las placas se incubaron a 4°C durante 20 minutos y luego se lavaron cuatro veces con agua. Cada cavidad de células se coloreó posteriormente con 100 μ l de SRB al 0,4% (p/v) en ácido acético al 1% durante 20 minutos, antes de realizar cuatro lavados con ácido acético al 1%. Luego se secaron las placas durante 2 horas a temperatura ambiente. El colorante de las células coloreadas se solubilizó agregando 100 μ l de base Tris 10 mM en cada cavidad. Las pacas se agitaron suavemente y se dejaron a temperatura ambiente durante 30 minutos, antes de medir la densidad óptica a 564 nm en un lector de placas para microtitulación Microquant.

El compuesto A tiene un valor de PF_{50} a 200 nM de al menos 20.

REIVINDICACIONES:

1. El compuesto 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona, CARACTERIZADO PORQUE se encuentra en la forma cristalina A.
2. El compuesto de la cláusula 1, CARACTERIZADO PORQUE presenta los siguientes picos característicos en una XRD de polvo:

Pico	$2\theta^{\circ} (\pm 0,1^{\circ})$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$)
1	12,0
2	17,8
3	21,1
4	22,3
5	29,2

3. El compuesto de la cláusula 1, CARACTERIZADO PORQUE presenta los siguientes picos característicos en una XRD de polvo:

Pico	$2\theta^{\circ} (\pm 0,1^{\circ})$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$)
1	12,0
2	17,8
3	21,1
4	22,3
5	29,2
6	10,5
7	14,0

8	21,7
9	24,3
10	26,1

4. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 3, CARACTERIZADO PORQUE comienza a fundirse a $210,1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ cuando se calienta desde 25°C hasta 325°C a razón de 10°C por minuto en DSC.

5. Un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:

(i) cristalizar 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de un solvente;

(ii) si el solvente original no es etanol, tratar el compuesto cristalino A con etanol;

(iii) tratar el compuesto cristalino A con agua para eliminar el etanol atrapado;

(iv) secar el producto resultante.

6. Un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:

(i) cristalizar 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de un solvente;

(ii) si el solvente original usado en la síntesis del compuesto A en la forma cristalina no es una mezcla de agua y un C_{1-2} alcohol, calentar el compuesto con una mezcla de agua y un C_{1-2} alcohol;

(iii) destilar la mezcla a presión ambiente; y

(iv) secar el producto resultante.

7. Un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:

(i) suspender el compuesto A en una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol como solvente;

(ii) calentar la suspensión a reflujo;

(iii) enfriar la solución y sembrar la misma con un compuesto A como la Forma A;

(iv) secar el producto resultante.

8. Un método de síntesis de 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de 4-[4-fluoro-3-(piperazin-1-carbonil)-bencil]-2H-ftalazin-1-ona, CARACTERIZADO PORQUE comprende el paso de:

(i) agregar una solución premezclada de trietilamina y cloruro de ciclopropancarbonilo, en un solvente orgánico de manera controlada, a 4-[4-fluoro-3-(piperazin-1-carbonil)-bencil]-2H-ftalazin-1-ona en el mismo solvente orgánico controlándose la temperatura de la solución para que sea inferior a 20°C.

9. Un método de síntesis de 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de ácido 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihidro-ftalazin-1-ilmetil)-benzoico, CARACTERIZADO PORQUE comprende hacer reaccionar ácido 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihidro-ftalazin-1-ilmetil)-benzoico con 1-(ciclopropilcarbonil)piperazina o una sal de un ácido mineral de la misma en presencia de un agente de acoplamiento de amida.

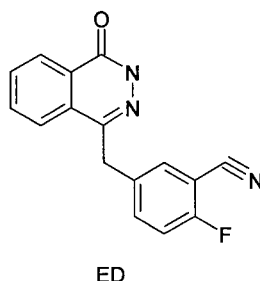
10. Un método para sintetizar ácido 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihidro-ftalazin-1-ilmetil)-benzoico, CARACTERIZADO PORQUE comprende el paso de:

(a) sintetizar (3-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-1-il)fosfonato de dietilo a partir de 2-carboxibenzaldehído;

(b) sintetizar 2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-iliden)metil]benzonitrilo a partir de (3-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-1-il)fosfonato de dietilo.

11. El método de la cláusula 10, CARACTERIZADO PORQUE además comprende el paso de:

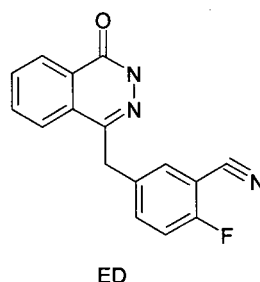
(c) sintetizar 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzonitrilo (ED):



a partir del compuesto E por reacción con hidrazina hidratado; y

(d) sintetizar el compuesto D a partir del compuesto ED por reacción con hidróxido de sodio.

12. Un compuesto, CARACTERIZADO PORQUE es 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihidroftalazin-1-il)metil]benzonitrilo (ED):



13. Una composición farmacéutica, CARACTERIZADA PORQUE comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4 y un vehículo o diluyente aceptables para uso farmacéutico.

14. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE es para usar en un método de tratamiento del cuerpo de un ser humano o de un animal.

15. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE es para usar en un método para inhibir PARP en el tratamiento del cuerpo de un ser humano o de un animal.

16. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE es para la preparación de un medicamento para inhibir la actividad de PARP.

17. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE es para la preparación de un medicamento para el tratamiento de: enfermedad vascular; shock séptico; lesión isquémica; neurotoxicidad; shock hemorrágico; infección viral; o enfermedades aliviadas por la inhibición de la actividad de PARP.

18. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE es para preparación de un medicamento para su uso como un adjunto en una terapia de cáncer o para potenciar células tumorales para un tratamiento con radiación ionizante o agentes quimioterapéuticos.

19. Uso de un compuesto de acuerdo con las cláusulas 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE es para la elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento de cáncer en un individuo, en donde dicho cáncer es deficiente en la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR.

20. Uso de acuerdo con la cláusula 19, CARACTERIZADO PORQUE dicho cáncer comprende una o más células cancerosas que tiene una capacidad reducida o anulada para reparar el ADN DSB por HR con relación a células normales.

21. Uso de acuerdo con la cláusula 20, CARACTERIZADO PORQUE dichas células cancerosas presentan un fenotipo deficiente en BRCA1 o BRCA2.

22. Uso de acuerdo con la cláusula 21, CARACTERIZADO PORQUE dichas células cancerosas son deficientes en BRCA1 o BRCA2.

23. Uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 19 a 22, CARACTERIZADO PORQUE dicho individuo es heterocigota para una mutación en un gen que codifica un componente de la vía de reparación de ADN DSB dependiente de HR.

24. Uso de acuerdo con la cláusula 23, CARACTERIZADO PORQUE dicho individuo es heterocigota para una mutación en BRCA1 y/o BRCA2.

25. Uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 19 a 24, CARACTERIZADO PORQUE dicho cáncer es cáncer de mama, de ovario, de páncreas o de próstata.

26. Uso de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 19 a 25, CARACTERIZADO PORQUE dicho tratamiento además comprende la administración de radiación ionizante o de un agente quimioterapéutico.

POLYMORPHIC FORM OF 4-[3-(4-CYCLOPROPANECARBONYL-PIPERAZINE-1-CARBONYL)-4-FLUOROBENZYL]-2H-PHTHALAZIN-1-ONE

RESUMEN

El compuesto 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona como la forma cristalina A.

127

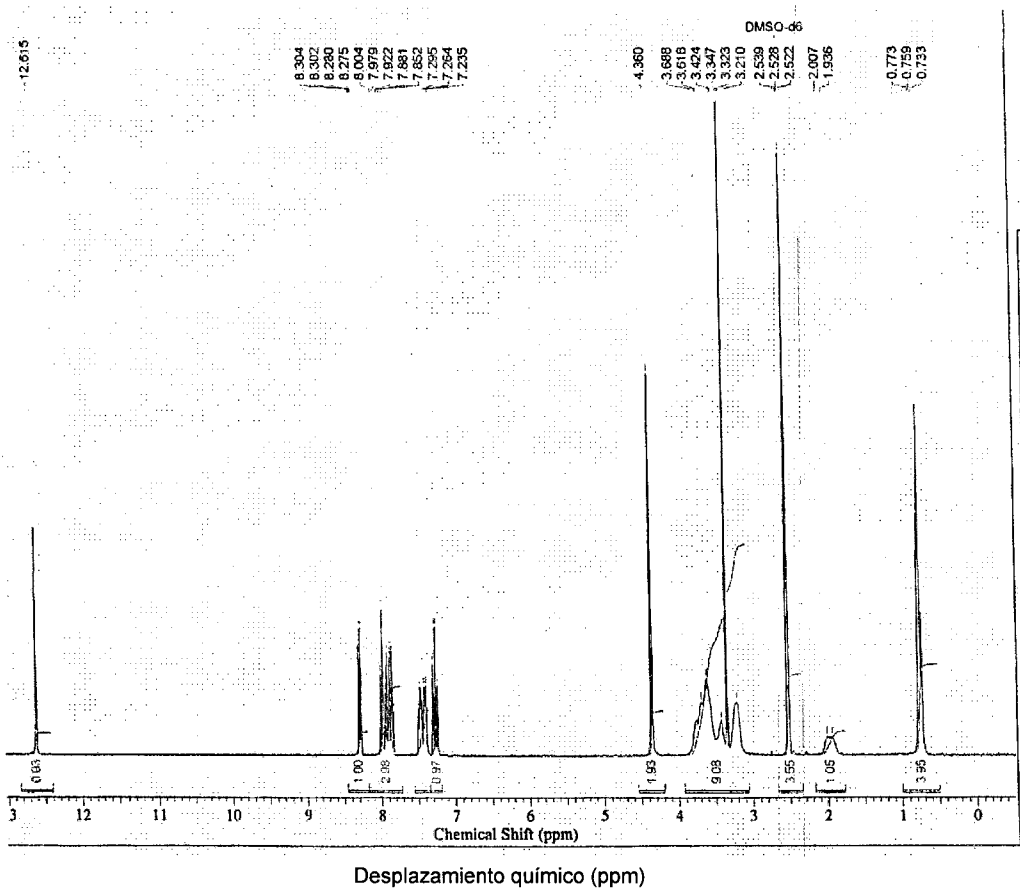
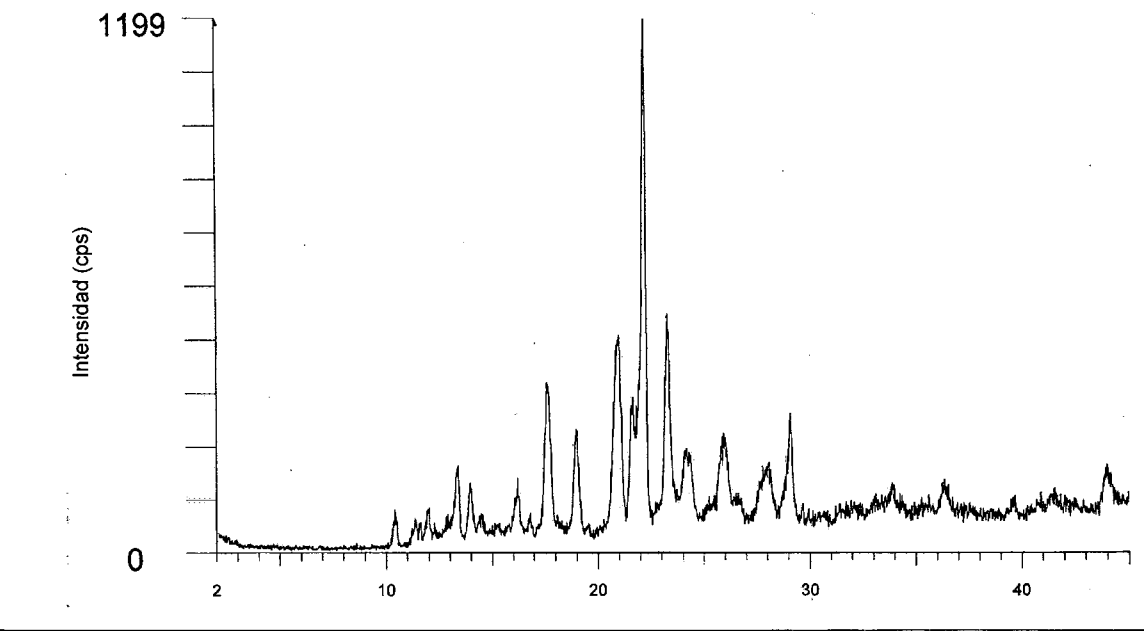


Figura 1



20

Figura 2

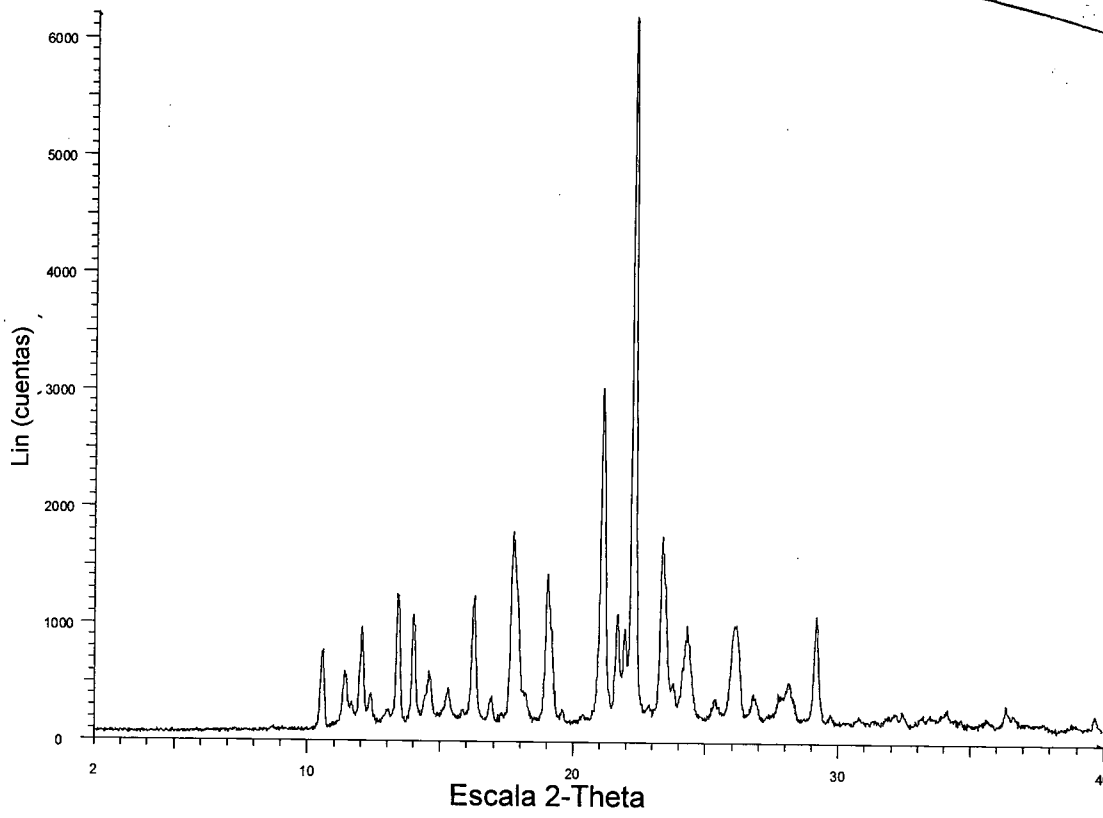


Figura 3

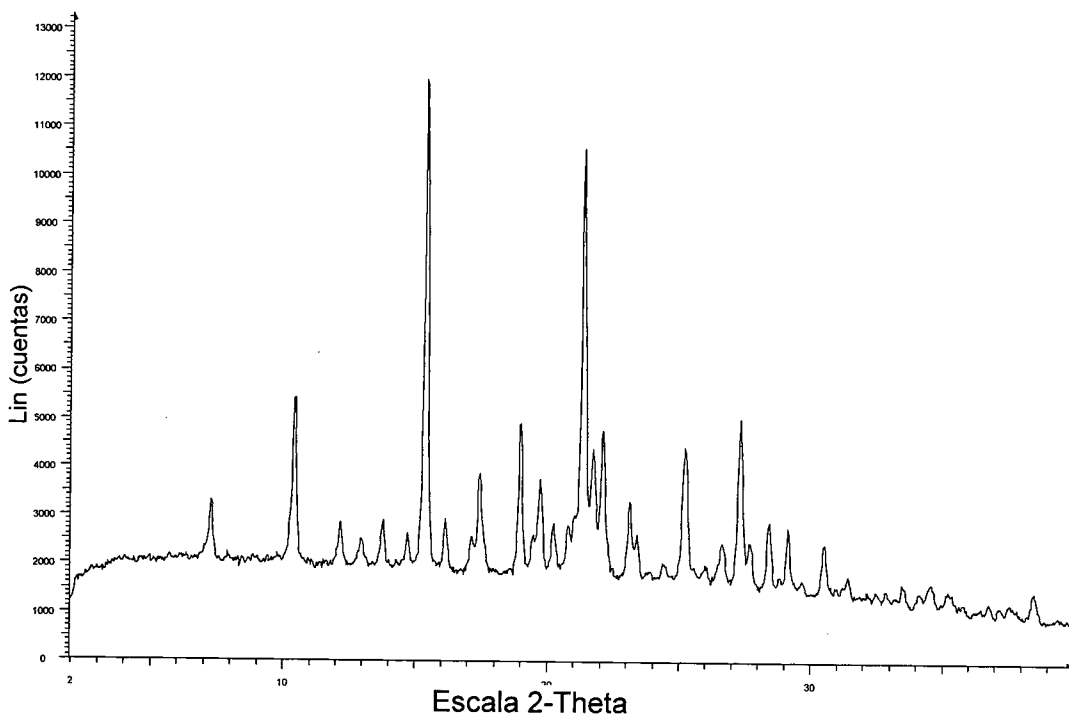


Figura 4

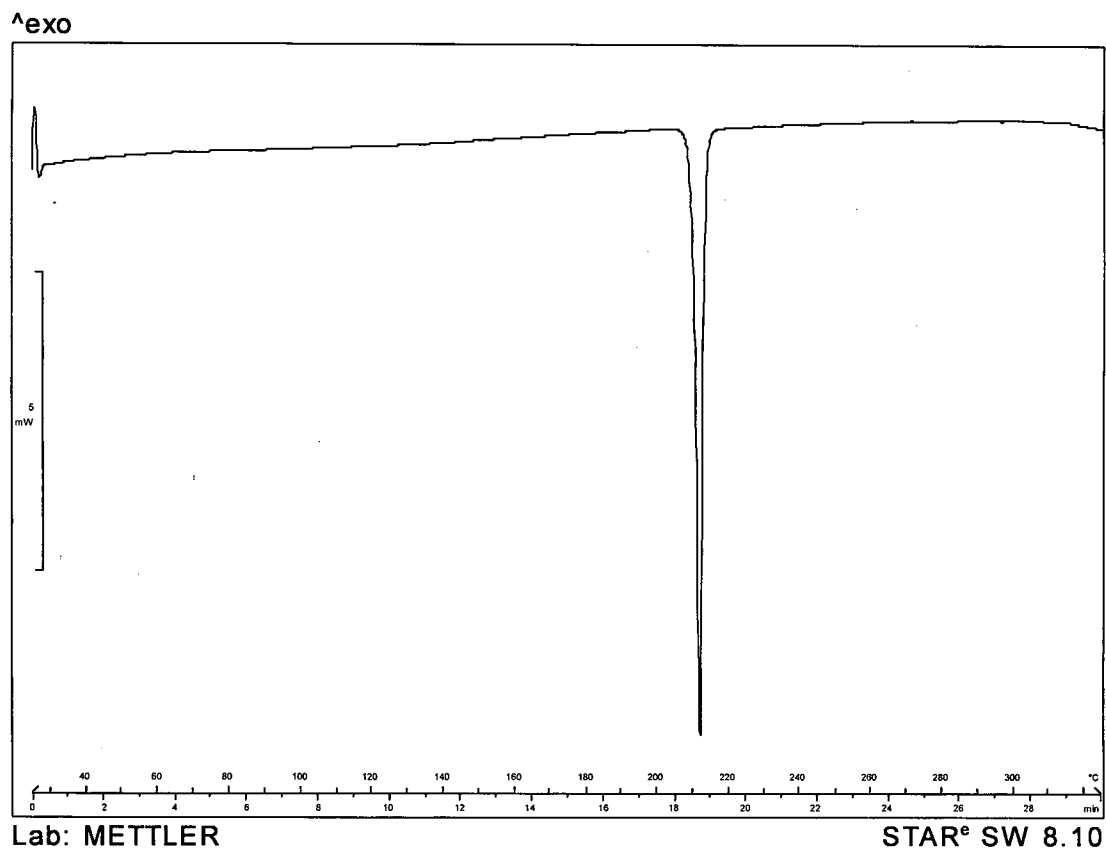


Figura 5

130

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2007/003888

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D237/32 A61K31/502 A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P 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.
X	WO 2004/080976 A (KUDOS PHARM LTD [GB]; MAYBRIDGE LTD [GB]) 23 September 2004 (2004-09-23) pages 46,47,74; examples 9,15; compound 168	1-26
Y	page 1, line 3 - line 7; claims 9-21; example 9; compound 168	1-7, 13-26
Y	CAIRA M R: "CRYSTALLINE POLYMORPHISM OF ORGANIC COMPOUNDS" TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 198, 1998, pages 163-208, XP001156954 ISSN: 0340-1022 page 165, last paragraph	1-7, 13-26
☐ 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 11 July 2008		Date of mailing of the international search report 22/07/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Moriggi, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2007/003888

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: 1. ☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 2. ☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: 3. ☐ Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: see additional sheet 1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims. 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees. 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/GB2007/003888

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-7,13-26

4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one in a crystalline form, its method of preparation, and its use

2. claims: 8-12

a method of synthesising
4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one in a non-crystalline form and the synthetic intermediate useful in said method

133

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2007/003888

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004080976 A	23-09-2004	AU 2004220321 A1	23-09-2004
		BR PI0408284 A	07-03-2006
		CA 2517629 A1	23-09-2004
		EP 1633724 A1	15-03-2006
		GB 2415430 A	28-12-2005
		HK 1079530 A1	20-10-2006
		HR 20050895 A2	31-12-2005
		IS 8052 A	28-09-2005
		JP 4027406 B2	26-12-2007
		JP 2006519827 T	31-08-2006
		JP 2008001718 A	10-01-2008
		KR 20060054172 A	22-05-2006
		MA 27758 A1	01-02-2006
		MX PA05009661 A	08-03-2006

(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 237/032
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) KUDOS PHARMACEUTICALS LIMITED
(30) Prioridad	(31) Prioridad 60/829,694	(32) Fecha 17/10/2006
		(33) País US
		(72) Inventor(es) KEITH ALLAN MENEAR Y OTROS
		(74) Apoderado: EMILIO FERRERO
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 17/05/2009	(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 24/04/2008	
Fecha de presentación de la solicitud: 15/10/2007	N° publicación: WO 2008/047/082 A3	
No. de solicitud PCT/GB2007/003888		
(54) Titulo: FORMA POLIMÓRFICA DE 4-[3-(4-CICLOPROPANCARBONIL-PIPERAZIN-1-CARBONIL)-4-FLUOROBENCIL]-2H-FTALAZIN-1-ONA		

Reivindicación(es):

1. El compuesto 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona, CARACTERIZADO PORQUE se encuentra en la forma cristalina A.
2. El compuesto de la cláusula 1, CARACTERIZADO PORQUE presenta los siguientes picos característicos en una XRD de polvo:

Pico	2θ° (± 0,1°) (λ = 1,5418 Å)
1	12,0
2	17,8
3	21,1
4	22,3
5	29,2

3. El compuesto de la cláusula 1, CARACTERIZADO PORQUE presenta los siguientes picos característicos en una XRD de polvo:

Pico	2θ° (± 0,1°) (λ = 1,5418 Å)
1	12,0
2	17,8
3	21,1
4	22,3
5	29,2
6	10,5
7	14,0
8	21,7
9	24,3
10	26,1

4. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 3, CARACTERIZADO PORQUE comienza a fundirse a 210,1°C ± 1°C cuando se calienta desde 25°C hasta 325°C a razón de 10°C por minuto en DSC.
5. Un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:

(i) cristalizar 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de un solvente;

(ii) si el solvente original no es etanol, tratar el compuesto cristalino A con etanol;

(iii) tratar el compuesto cristalino A con agua para eliminar el etanol atrapado;

(iv) secar el producto resultante.

6. Un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:

(i) cristalizar 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de un solvente;

(ii) si el solvente original usado en la síntesis del compuesto A en la forma cristalina no es una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol, calentar el compuesto con una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol;

(iii) destilar la mezcla a presión ambiente; y

(iv) secar el producto resultante.

7. Un método para obtener 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona (compuesto A) como la forma cristalina A, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:

(i) suspender el compuesto A en una mezcla de agua y un C₁₋₂ alcohol como solvente;

(ii) calentar la suspensión a reflujo;

(iii) enfriar la solución y sembrar la misma con un compuesto A como la Forma A;

(iv) secar el producto resultante.

8. Un método de síntesis de 4-[3-(4-ciclopropancarbonil-piperazin-1-carbonil)-4-fluoro-bencil]-2H-ftalazin-1-ona a partir de 4-[4-fluoro-3-(piperazin-1-carbonil)-bencil]-2H-ftalazin-1-ona, CARACTERIZADO PORQUE comprende el paso de:

(i) agregar una solución premezclada de trietilamina y cloruro de ciclopropancarbonilo, en un solvente orgánico de manera controlada, a 4-[4-fluoro-3-(piperazin-1-carbonil)-bencil]-2H-ftalazin-1-ona en el mismo solvente orgánico controlándose la temperatura de la solución para que sea inferior a 20°C.

135.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-048110- -00000-0000

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha: 2009-05-12 16:56:11 Dep. 2020 NUECREACION!
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 138

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 29,816
FECHA : ABRIL 20 DE 2009

**** CONSIGNACION ****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	105577964	20/04/2009	48,405,000.00

**** CONCEPTO ****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL :	\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

001:14917-841-001-0.

136

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-048110-00000-0000

Fecha: 2009-05-12 16:56:11 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 138

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 32,233
FECHA : ABRIL 30 DE 2009

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	105595836	29/04/2009	5,460,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-06	REGISTRO DE CESION, CAMBIO NOM	
		13 NOMBRES Y ENSENAS COMERCIALES, MAR	273,000.00
		TOTAL :	\$ 273,000.00

SON: DOSCIENTOS SETENTA Y TRES MIL PESOS



RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

020: 14917-841-001-0

137

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-048110- -00000-0000

Fecha: 2009-05-12 16:56:11 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 138

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

RIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 09 - 21,270
FECHA : MARZO 17 DE 2009

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	19779056	17/03/2009	31,490,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS
			TOTAL :
			1,000.00
			1,000.00

MON: MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

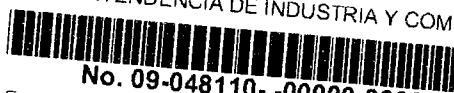
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

0010: 14912 - 841 - 001-0.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SULO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

138.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-048110-00000-0000

Fecha: 2009-05-12 16:56:11

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 138

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800174089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 09 - 21,271
FELSA : MARZO 17 DE 2009

==== CONSIGNACION =====

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	19779096	17/03/2009	31,490,000.00

==== CONCEPTO =====

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	1,000.00
		TOTAL :	\$ 1,000.00

MON: MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO: 14917- 841- 001-0.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLA PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TAXIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.



No. 09-048110- -00000-0000

Fecha: 2009-05-12 16:56:11 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 138



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION

[X]

MODELO DE UTILIDAD

[]

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- ◆ Descripción de la invención [X]
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [X]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X]

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica 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 []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Edgar Nuñez

Firma Responsable

Fecha 12-05-09

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO

REFERENCIA	Radicación No.	9 48110
	Solicitud internacional	PCT/GB2007/003888
	Fecha inicio fase nacional	17/05/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	Nº 5917

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

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____
adpall **22 MAYO 2009**