



SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **“1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA”**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **C07D 403/12**

71. SOLICITANTE **RESPIVERT LIMITED**

DOMICILIO **BUCKINGHAMSHIRE, REINO UNIDO.**

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

22. BOGOTÁ, D.C. **21 MAR 2014**



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



ivo de radicación

No. 14-062064- -00000-0000

Fecha: 2014-03-21 17:25:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

DIRECCIÓN
SOLICITUD FASE NACIONAL –PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☐ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☒ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/GB2012/052445	Fecha 03/10/12
Publicación Internacional No.		WO 2013/050757 A1	Fecha 11/04/13
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCION:		
"1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA"			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP		
C07D 403/12			
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
4.	RESPIVERT LIMITED		
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		50-100 Holmers Farm Way, High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG, Reino Unido.	
CIUDAD		Buckinghamshire	
DEPARTAMENTO/ESTADO			
PAÍS DE RESIDENCIA		Reino Unido	
No. TELÉFONO		3264270	
E-MAIL		notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN		Inglaterra y Gales	
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1	ITO	Kazuhiro	Japón
2	CHARRON	Catherine Elisabeth	Canadá
3	KING-UNDERWOOD	John	Reino Unido
4	ONIONS	Stuart Thomas	Reino Unido
5	LONGSHAW	Alistair Ian	Reino Unido
6	BROECKX	Rudy	Bélgica
7	FILLIERS	Walter	Bélgica
8	COPMANS	Alex	Bélgica
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificacionespatentes@lloredacamacho.com			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
Reino Unido		London	1. c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ, Reino Unido.
Reino Unido		London	2. c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ, Reino Unido.
Reino Unido		Worcestershire	3. Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire, GL19 3PW, Reino Unido.
Reino Unido		Nottingham	4. c/o Sygnature Chemical Services Ltd, Biocity Nottingham, Pennyfoot Street, Nottingham NG1 1GF, Reino Unido.
Reino Unido		Nottingham	5. c/o Sygnature Chemical Services Ltd, Biocity Nottingham, Pennyfoot Street, Nottingham NG1 1GF, Reino Unido.
Bélgica		Beerse	6. c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Bélgica.
Bélgica		Beerse	7. c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Bélgica.
Bélgica		Beerse	8. c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Bélgica.
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	(74) ☒ REPRESENTANTE ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LLOREDA RICAURTE		ALICIA	C.C 39.690.713 T.P .53.215
DIRECCIÓN		Calle 72 No 5-83 Piso 5to No. TELÉFONO 3264270	
CIUDAD		Bogotá E-MAIL notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
PAÍS		Colombia No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. Oficina Europea de Patentes		EP	11183682.1	11/10/03
2. Oficina Europea de Patentes		EP	11183688.8	11/10/03
3. Oficina Europea de Patentes		EP	12168396.5	12/05/16
4. Oficina Europea de Patentes		EP	12168395.7	12/05/16
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas	Entidades sin ánimo de lucro	
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.			☐ Hoja de información complementaria.	
			☐ Otros, especificar	
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de Internet.				
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 14-0012403	Fecha 03-02-2014	
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
				
ALICIA LLOREDA RICAURTE Representante				
C.C. 39.690.713 T.P.53.215 Apoderado				
16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
Solicitud Internacional en castellano				
1. ☒ Descripción N° de folios: 63		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.		
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 16		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 7		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.		
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
7. ☒ Arte final 12 x 12.		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.		
8. ☒ Anexo formato digital.		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

•

VER ANEXO CD

•

		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: <u>14</u> / <u>3</u> / <u>21</u> AAAA MM DD	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		Recorrido: 4	
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14062069	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD ☒
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: EL CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 10 ARCHIVOS: 10 EN FORMATO PDF, LOS CUALES FUERON PROCESADOS. EL CD SE ENCUENTRA EN EL FOLIO (3)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0012403

Bogotá D.C., Febrero 03 de 2014 - 16:54:19

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A.

NI 830.022.145

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	12401	03/02/2014		64.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134848	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134849	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134850	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134851	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134852	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134853	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134854	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134855	26/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	134856	26/12/2013		505.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO

CONCEPTO

Vr.UNDITARIO

Vr.CONCEPTO

1 50005-01-01 SOLICITUDES

1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN

515.000.00

515.000.00

515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-062064- -00000-0000

Fecha: 2014-03-21 17:25:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Febrero 3 de 2014 - 16:54:21



No. 14-062064- -00000-0000

Fecha: 2014-03-21 17:25:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5



ADM

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

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

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

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

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

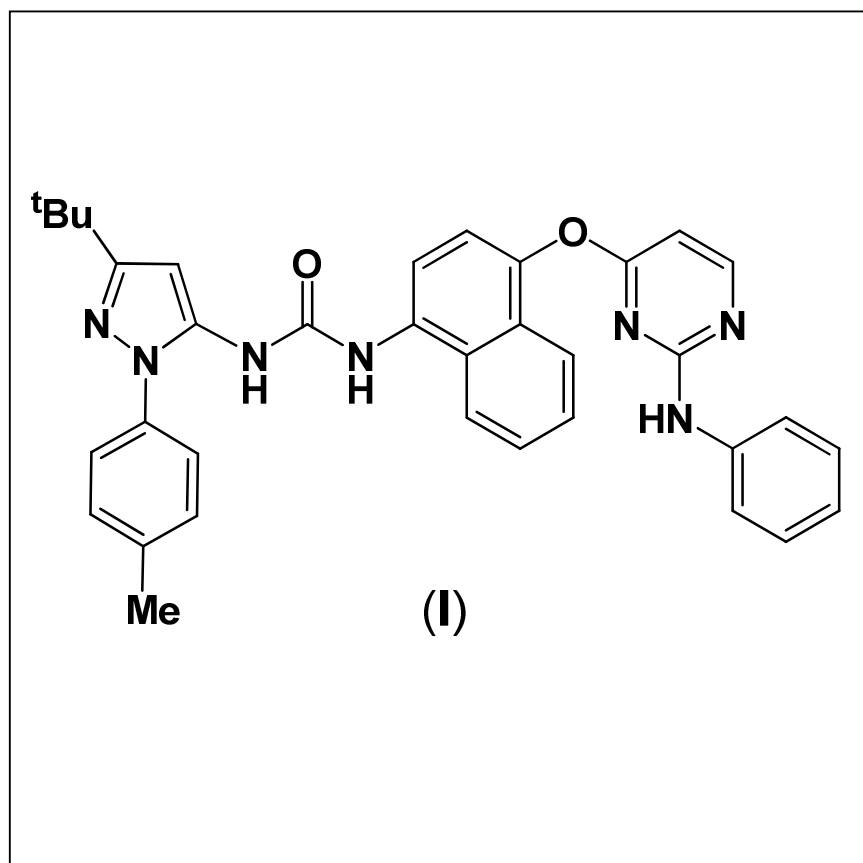
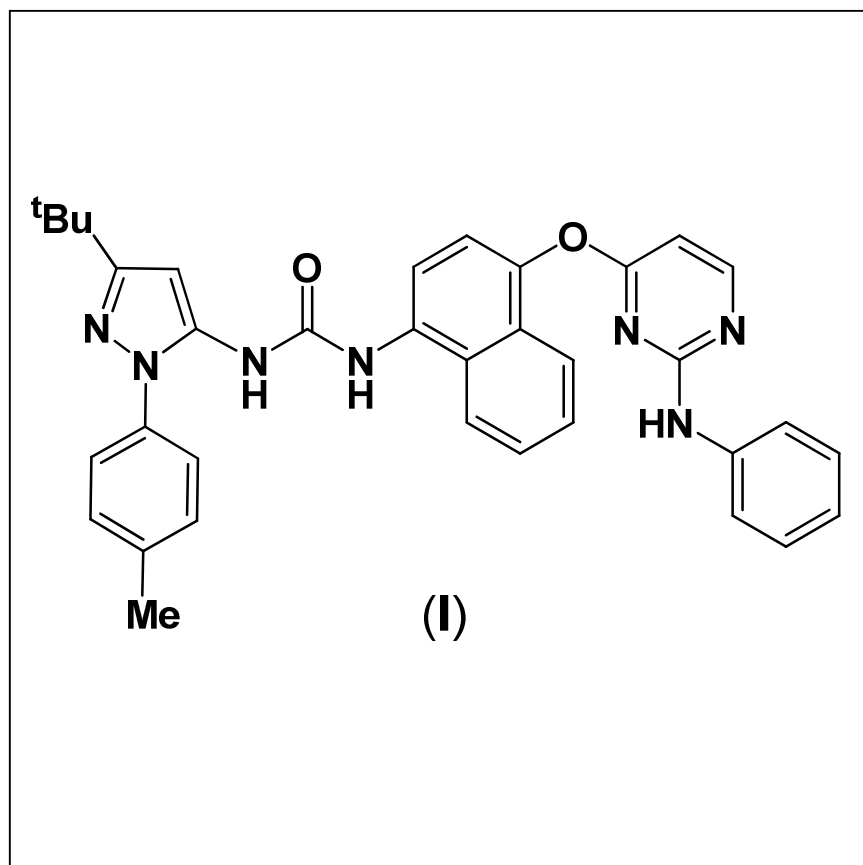
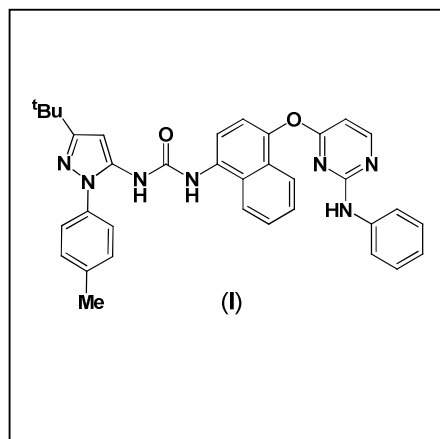
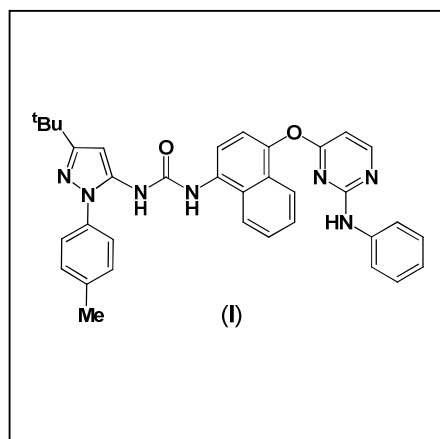
(Art. 119 Decisión 486/00)

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

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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



1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO
INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Se proporciona un compuesto de la fórmula (I) que es un inhibidor de la familia de enzimas cinasas de la proteína activada por el mitógeno p38, y su uso en terapia, incluido en combinaciones farmacéuticas, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD.

SECTOR: Sector farmacéutico. Compuestos inhibidores de P38 MAP cinasas, útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD.

**1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO
INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA**

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a compuestos que son inhibidores de la familia de enzimas de proteínas cinasas activadas por mitógeno p38 (denominados en este documento como inhibidores de P38 MAP cinasas), por ejemplo los subtipos alfa y gama cinasas de los mismos, y de la cinasa Syk y la familia Src de tirosinas cinasas, y a su uso en terapia, incluyendo combinaciones farmacéuticas, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, en particular enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD (por sus siglas en inglés), así como también las enfermedades del tracto gastrointestinal, tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn y del ojo, tal como uveítis.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Se han identificado cuatro isoformas de p38 MAPK (alfa, beta, gama y delta respectivamente), cada una de las cuales presenta distintos patrones de expresión en tejidos en el hombre. Las isoformas de p38 MAPK alfa y beta se encuentran de forma ubicua en el cuerpo y están presentes en muchos tipos celulares distintos. La isoforma alfa está bien caracterizada en términos de su rol en la inflamación. Aunque los estudios que utilizan un enfoque químico genético en ratones indican que la isoforma de p38 MAPK no desempeña un rol en la inflamación (O'Keefe, S.J. *et al*, *J. Biol. Chem.*, 2007, 282(48):34663–71.), ésta puede estar involucrada en los mecanismos de dolor a través de la regulación de la expresión de COX2 (Fitzsimmons, B.L. *et al.*, *Neuroreport*, 2010, 21(4):313–7). Estas isoformas son inhibidas por una cantidad de compuestos de pequeño peso molecular descritos anteriormente. Las primeras clases de inhibidores fueron altamente tóxicas debido a la

amplia distribución tisular de estas isoformas que resultó en múltiples efectos distintos a los deseados de los compuestos. Asimismo, el desarrollo de una cantidad sustancial de inhibidores se ha interrumpido debido a perfiles de seguridad inaceptables en estudios clínicos (Pettus, L.H. and Wurz, R.P., *Curr. Top. Med. Chem.*, 2008, 8(16):1452–67.). Como estos efectos adversos varían con el quimiotipo, y los compuestos tienen distintos patrones de selectividad de cinasa, las toxicidades observadas pueden estar relacionadas con la estructura en lugar de estar basadas en el mecanismo de p38.

Se sabe menos sobre las isoformas de p38 MAPK gama y delta, las cuales a diferencia de las isozimas alfa y beta se expresan en células y tejidos específicos. La isoforma p38 MAPK delta se expresa predominantemente en el páncreas, testículos, pulmón, intestino delgado y el riñón. También es abundante en los macrófagos y es detectable en neutrófilos, en linfocitos T CD4 + y en células endoteliales (Shmueli, O. *et al.*, *Comptes Rendus Biologies*, 2003, 326(10–11):1067–1072; Smith, S. J. *Br. J. Pharmacol.*, 2006, 149:393–404; Hale, K. K., *J. Immunol.*, 1999, 162(7):4246–52; Wang, X. S. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272(38):23668–23674.) Se sabe muy poco acerca de la distribución de p38 MAPK gama aunque se expresa predominantemente en el cerebro, el músculo esquelético y el corazón, así como también en linfocitos y macrófagos (Shmueli, O. *et al.*, *Comptes Rendus Biologies*, 2003, 326(10–11):1067–1072; Hale, K. K., *J. Immunol.*, 1999, 162(7):4246–52; Court, N. W. *et al.*, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2002, 34(4):413–26; Mertens, S. *et al.*, *FEBS Lett.*, 1996, 383(3):273–6.).

Los inhibidores selectivos de moléculas pequeñas de p38 MAPK gama y p38 MAPK delta no están actualmente disponibles, aunque se sabe que un compuesto descrito anteriormente, BIRB 796 posee actividad inhibidora de pan-isoforma. La inhibición de las isoformas de p38 MAPK gama y delta se observa a más altas concentraciones del compuesto que las requeridas para inhibir la p38 MAPK alfa y beta (Kuma, Y., *J. Biol. Chem.*, 2005, 280:19472–19479.). Adicionalmente, BIRB 796 también afectó la fosforilación de las p38 MAPKs o JNKs por la cinasa MKK4 o MKK6

en la dirección 5'. Kuma analizó la posibilidad de que el cambio conformacional provocado por la unión del inhibidor a la proteína MAPK puede afectar la estructura tanto de su sitio de fosforilación como del sitio de interacción molecular para el activador en la dirección 5', afectando de esta manera la fosforilación de las MAPKs p38 o JNKs.

Se cree que la p38 MAP cinasa cumple un rol fundamental en muchas de las vías de señalización que están involucradas en la iniciación y el mantenimiento de la inflamación crónica y persistente en la enfermedad humana, por ejemplo, en el asma grave y en la COPD (Chung, F., *Chest*, 2011, 139(6) :1470–1479.). En la actualidad existe una bibliografía abundante que demuestra que la p38 MAP cinasa se activa por una serie de citocinas pro-inflamatorias y que su activación tiene como resultado el reclutamiento y la liberación de otras citocinas pro-inflamatorias. En efecto, los datos provenientes de algunos estudios clínicos demuestran cambios beneficiosos en la actividad de la enfermedad en pacientes durante el tratamiento con inhibidores de la p38 MAP cinasa. Por ejemplo, Smith describe el efecto inhibidor de los inhibidores de la p38 MAP cinasa en la liberación de $\text{TNF}\alpha$ (pero no de IL-8) de PBMC humanos.

También se ha propuesto el uso de inhibidores de la p38 MAP cinasa en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD). Los inhibidores de moléculas pequeñas dirigidos a la p38 MAPK α/β han demostrado ser eficaces en la reducción de diversos parámetros de inflamación en células y en tejidos obtenidos de pacientes con COPD, que generalmente son insensibles a corticosteroides (Smith, S.J., *Br. J. Pharmacol.*, 2006, 149:393–404.) así como también en diversos modelos animales *in vivo* (Underwood, D.C. *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 2000, 279:L895–902; Nath, P. *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.*, 2006, 544:160–167.). Irusen y sus colegas también han sugerido la posible participación de la p38 MAPK α/β con insensibilidad a corticosteroides a través de la reducción de la afinidad de unión del receptor de glucocorticoides (GR) en los núcleos (Irusen, E. *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 109:649–657.). Se ha descrito la experiencia clínica con un intervalo de inhibidores de la p38 MAP cinasa, incluyendo AMG548, BIRB 796, VX702, SCIO469 y SCIO323 (Lee,

M.R. y Domínguez, C., *Current Med. Chem.*, 2005, 12:2979–2994.).

La COPD es una afección en la que se informa que la inflamación subyacente es sustancialmente resistente a los efectos antiinflamatorios de los corticosteroides inhalados. Por consiguiente, una estrategia superior para el tratamiento de la COPD sería el desarrollo de una intervención que tiene ambos, efectos inherentes antiinflamatorios y la capacidad de aumentar la sensibilidad de los tejidos pulmonares de los pacientes con COPD a los corticosteroides inhalados. Una publicación reciente de Mercado (Mercado, N., *et al.*, *Mol. Pharmacol.*, 2011, 80(6):1128–1135.) demuestra que el silenciamiento de la p38 MAPK y tiene el potencial de restablecer la sensibilidad a los corticosteroides. En consecuencia, puede haber un doble beneficio para los pacientes en el uso de un inhibidor de la p38 MAP cinasa para el tratamiento de la COPD y el asma grave. Sin embargo, el principal obstáculo que impide la utilidad de los inhibidores de la p38 MAP cinasa en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas en humanos ha sido la grave toxicidad observada en pacientes que tuvo como resultado el abandono del desarrollo clínico de muchos compuestos, incluyendo todos los mencionados específicamente con anterioridad.

Muchos de los pacientes diagnosticados con asma o la COPD continúan sufriendo síntomas descontrolados y exacerbaciones de su afección médica que pueden tener como resultado la hospitalización. Esto ocurre a pesar del uso de regímenes de tratamiento más avanzados, disponibles en la actualidad, que comprenden la combinación de productos de un corticosteroide inhalado y un β -agonista de acción prolongada. Los datos acumulados a lo largo de la última década indican que la incapacidad de tratar eficazmente el componente inflamatorio subyacente de la enfermedad en el pulmón es la causa más probable de que ocurran las exacerbaciones. Dada la eficacia demostrada de los corticosteroides como agentes antiinflamatorios y, en particular, de los corticosteroides inhalados en el tratamiento del asma, estos hallazgos han provocado una intensa investigación. Estudios resultantes han identificado que algunas agresiones ambientales provocan cambios inflamatorios insensibles a los corticosteroides en los pulmones de los pacientes. Un ejemplo es la

respuesta que surge de infecciones del tracto respiratorio superior (ITRS) mediadas por virus, que tienen particular importancia en el aumento de la morbilidad asociada con el asma y la COPD.

Las investigaciones epidemiológicas han revelado una fuerte asociación entre las infecciones virales del tracto respiratorio superior y un porcentaje sustancial de las exacerbaciones sufridas por los pacientes ya diagnosticados con enfermedades respiratorias crónicas. Algunos de los datos más convincentes en este sentido provienen de estudios longitudinales de niños que sufren de asma (Papadopoulos, N.G., Papi, A., Psarras, S. y Johnston, S.L., *Paediatr. Respir. Rev.*, 2004, 5(3):255–260.). Una variedad de estudios adicionales apoyan la conclusión de que una infección viral puede precipitar las exacerbaciones y aumentar la gravedad de la enfermedad. Por ejemplo, las infecciones clínicas experimentales con rinovirus han sido descritas como causantes de la hiper-reactividad bronquial a la histamina en los asmáticos que no responden al tratamiento con corticosteroides (Grunberg, K., Sharon, R.F., *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, 164(10):1816–1822.). Otra prueba proviene de la asociación observada entre exacerbaciones de la enfermedad en pacientes con fibrosis quística e infecciones de HRV (por sus siglas en inglés) (Wat, D., Gelder, C., *et al.*, *J. Cyst. Fibros.*, 2008, 7:320–328.). También en consonancia con este conjunto de datos se encuentra el hallazgo de que las infecciones respiratorias virales, incluyendo el rinovirus, representan un factor de riesgo independiente que se correlaciona negativamente con la tasa de supervivencia de 12 meses en receptores pediátricos de trasplante pulmonar (Liu, M., Worley, S., *et al.*, *Transpl. Infect. Dis.*, 2009, 11(4):304–312.).

La investigación clínica indica que la carga viral es proporcional a los síntomas y complicaciones observados y, en consecuencia, a la gravedad de la inflamación. Por ejemplo, a continuación de la infección experimental por rinovirus, los síntomas del tracto respiratorio inferior y la hiper-reactividad bronquial se correlacionaron significativamente con la carga viral (Message, S.D., Laza-Stanca, V., *et al.*, *PNAS*, 2008; 105(36):13562–13567.). Del mismo modo, en ausencia de otros

agentes virales, las infecciones por rinovirus estuvieron comúnmente asociadas con infecciones del tracto respiratorio inferior y sibilancias, cuando la carga viral era alta en pacientes pediátricos inmunocompetentes (Gerna, G., Piralla, A., *et al.*, *J. Med. Virol.*, 2009, 81(8):1498–1507.).

Curiosamente, se ha informado recientemente que la exposición previa al rinovirus redujo las respuestas de citocinas evocadas por productos bacterianos en los macrófagos alveolares humanos (Oliver, BG, Lim, S., *et al.*, *Thorax*, 2008, 63:519–525.). Además, se ha documentado que la infección de las células epiteliales nasales con rinovirus promueve la adherencia de bacterias, incluyendo *S. aureus* y *H. influenzae* (Wang, J.H., Kwon, H.J. y Yong, J.J., *The Laryngoscope*, 2009, 119(7):1406–1411.). Dichos efectos celulares pueden contribuir a la mayor probabilidad de que los pacientes sufran una infección del tracto respiratorio inferior luego de una infección en el tracto respiratorio superior. En consecuencia, es terapéuticamente relevante centrarse en la capacidad de nuevas intervenciones para disminuir la carga viral en una variedad de sistemas *in vitro*, como un indicador sustituto de su beneficio en un entorno clínico.

Los grupos de alto riesgo, para los que una infección por rinovirus en el tracto respiratorio superior puede dar lugar a graves complicaciones secundarias, no se limitan a pacientes con enfermedad respiratoria crónica. Ellos incluyen, por ejemplo, los pacientes con compromiso en el sistema inmune que son propensos a la infección del tracto respiratorio inferior, así como también pacientes sometidos a quimioterapia, que enfrentan fiebre aguda, potencialmente mortal. También se ha sugerido que otras enfermedades crónicas, tales como diabetes, están asociadas con un compromiso de respuesta de inmunodefensa. Esto aumenta tanto la probabilidad de contraer una infección de las vías respiratorias como la hospitalización consiguiente (Peleg, A.Y., Weerarathna, T., *et al.*, *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2007, 23(1):3–13; Kornum, J.B., Reimar, W., *et al.*, *Diabetes Care*, 2008, 31(8):1541–1545.).

Mientras que las infecciones virales del tracto respiratorio superior causan una morbilidad y mortalidad considerables en aquellos pacientes con enfermedad

subyacente u otros factores de riesgo; dichas infecciones también representan una carga significativa en el cuidado de la salud de la población en general y son la causa principal de ausencia en la escuela y tiempo perdido en el lugar de trabajo (Rollinger, J.M. y Schmidtke, M., *Med. Res. Rev.*, 2010, Doi 10.1002/med.20176.). Estas consideraciones dejan claro que se necesitan con urgencia medicamentos nuevos que posean eficacia mejorada en comparación con los tratamientos actuales, para prevenir y tratar infecciones mediadas por rinovirus del tracto respiratorio superior. En general, las estrategias adoptadas para el descubrimiento de mejores agentes antivirales se han dirigido a diversas proteínas producidas por el virus, como el punto de intervención terapéutica. Sin embargo, la amplia variedad de serotipos de rinovirus hace de éste un enfoque particularmente difícil de perseguir y puede explicar por qué, en la actualidad, un medicamento para la profilaxis y el tratamiento de las infecciones por rinovirus aún tiene que ser aprobado por un ente regulador.

La entrada viral en la célula huésped está asociada con la activación de un número de vías de señalización intracelular que se cree juegan un papel prominente en la aparición de procedimientos inflamatorios (revisado por Ludwig, S, 2007; *Signal Transduction*, 7 :81–88.) y de la propagación viral y la posterior liberación. Uno de estos mecanismos, que se ha determinado que desempeña un rol en la propagación de virus de la influenza *in vitro*, es la activación de la vía fosfoinositida 3–cinasa/Akt. Se ha informado de que esta vía de señalización es activada por la proteína NS1 del virus (Shin, Y.K., Liu, Q. *et al.*, *J. Gen. Virol.*, 2007, 88:13–18.) y que su inhibición reduce las titulaciones de la progenie del virus (Ehrhardt, C., Marjuki, H. *et al.*, *Celular Microbiol.*, 2006, 8:1336–1348.).

Asimismo, se ha documentado que el inhibidor de MEK U0126 inhibe la propagación viral sin provocar la aparición de variantes resistentes del virus (Ludwig, S., Wolff, T. *et al.*, *FEBS Lett.*, 2004, 561(1–3) :37–43.). Más recientemente, los estudios dirigidos a la inhibición de la cinasa Syk han demostrado que la enzima desempeña un rol importante en la mediación de entrada del rinovirus en las células y también respuestas inflamatorias inducidas por el virus, incluyendo la sobre-

regulación de ICAM-1 (Sanderson, M.P., Lau, C.W. *et al.*, *Inflamm. Allergy Drug Targets*, 2009, 8:87–95.). Se informa que la actividad de Syk es controlada por c-Src como una cinasa en la dirección 5' en la infección por HRV (Lau, C. *et al.*, *J. Immunol.*, 2008, 180(2) :870–880.). Un pequeño número de estudios une la activación de Src celular (Src1 o p60-Src) o cinasas de la familia Src a la infección con virus. Estos estudios incluyen un informe que indica que el adenovirus provoca una activación de Akt mediada por cinasa PI3 a través de un mecanismo dependiente de c-Src. También se ha sugerido que la producción de IL-8 inducida por el Rinovirus-39 en células epiteliales depende de la activación de cinasas Src (Bentley, J.K., Newcomb, D.C., *J. Virol.*, 2007, 81:1186–1194.). Por último, se ha propuesto que la activación de cinasa Src está involucrada en la inducción de la producción de mucina por rinovirus-14 en células epiteliales y glándulas submucosas (Inoue, D. y Yamaya, M., *Respir. Physiol. Neurobiol.*, 2006, 154(3):484–499.).

Se ha descrito anteriormente que los compuestos que inhiben la actividad tanto de c-Src como de cinasas Syk son agentes eficaces contra la replicación del rinovirus (Charron, C.E. *et al.*, WO 2011/158042.) y que los compuestos que inhiben la p59-HCK son eficaces contra la replicación del virus de influenza (Charron, C.E. *et al.*, WO 2011/070369.). Por las razones resumidas anteriormente, se espera que los compuestos destinados al tratamiento de enfermedades respiratorias crónicas que combinan estas propiedades inherentes con la inhibición de p38 MAPK sean particularmente eficaces.

Ciertos inhibidores de la p38 MAPK también se han descrito como inhibidores de la replicación del virus respiratorio sincicial (Cass, L. *et al.*, WO 2011/158039).

Asimismo, cabe destacar que se descubrió que un inhibidor de p38 MAPK produce beneficios para los pacientes con IBD (por sus siglas en inglés) luego de un tratamiento de una semana que no se mantuvo durante cuatro semanas de tratamiento (Schreiber, S. *et al.*, *Clin. Gastro. Hepatology*, 2006, 4:325–334.).

Además de desempeñar un rol clave en los eventos de señalización

celular que controlan la actividad de vías pro-inflamatorias, ahora también se sabe que las enzimas de cinasas regulan la actividad de un intervalo de funciones celulares. Entre las que se han divulgado recientemente se encuentran el mantenimiento de la integridad del ADN (Shilo, Y. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3: 155–168.) y la coordinación de los procedimientos complejos de la división celular. Un ejemplo ilustrativo de los hallazgos recientes es una publicación que describe el impacto de un conjunto de inhibidores que actúan sobre las así denominadas "cinasas Olaharsky" sobre la frecuencia de la formación de micronúcleos *in vitro* (Olaharsky, A.J. *et al.*, *PLoS Comput. Biol.*, 2009, 5(7):e1000446.). La formación de micronúcleos está implicada en, o asociada con, la interrupción de procedimientos mitóticos y, por lo tanto, es una manifestación indeseable de toxicidad potencial. Se descubrió que la inhibición de glucógeno sintasa cinasa 3 α (GSK3 α) era un factor especialmente significativo que aumenta la probabilidad de un inhibidor de cinasa que promueve la formación de micronúcleos. Recientemente, también se informó que la inhibición de la cinasa GSK3 β con RNAi promueve la formación de micronúcleos (Tighe, A. *et al.*, *BMC Cell Biology*, 2007, 8: 34).

Puede ser posible atenuar los efectos adversos que surgen de las interacciones del fármaco con cinasas Olaharsky, tales como GSK3 α , mediante la optimización de la dosis y/o mediante el cambio de la ruta de administración. Sin embargo, sería más ventajoso identificar moléculas terapéuticamente útiles que demuestren actividad baja o indetectable contra estas enzimas inespecíficas y que, por consiguiente, provoquen poco o ningún trastorno de los procedimientos mitóticos, tal como se mide en ensayos de mitosis.

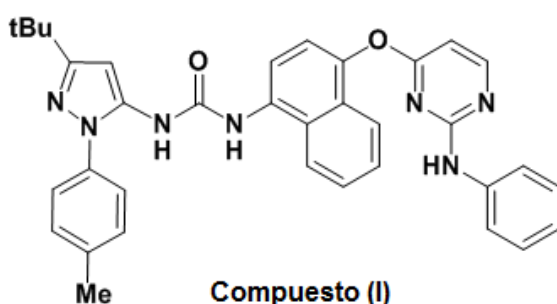
Resulta evidente a partir del estudio de la bibliografía citada anteriormente en este documento que todavía existe una necesidad de identificar y desarrollar nuevos inhibidores de la p38 MAP cinasas que tengan potencial terapéutico mejorado en comparación con los tratamientos actualmente disponibles. Los compuestos deseables son los que presentan un índice terapéutico superior ejerciendo, por lo menos, un efecto igualmente eficaz que los agentes anteriores pero, en uno o más aspectos, son

menos tóxicos a la dosis terapéutica relevante. Por lo tanto, un objetivo de la presente invención consiste en proporcionar dichos compuestos novedosos que inhiben la actividad de la enzima de la p38 MAP cinasa, por ejemplo, con ciertas especificidades de subtipos, junto con la cinasa Syk y las tirosinas cinasas dentro de la familia Src (particularmente c-Src) que por lo tanto poseen buenas propiedades antiinflamatorias, y son adecuados para utilizarse en terapia.

El Compuesto (I) exhibe una mayor duración de acción y/o persistencia de acción en comparación con otros inhibidores alostéricos de la p38 MAP cinasa divulgados anteriormente tales como, por ejemplo, BIRB 796 (Pargellis, C. *et al.*, *Nature Struct. Biol.*, 2002, 9(4):268–272.). Una modalidad adicional proporciona dicho compuesto novedoso en una o más formas sólidas, cristalinas que poseen alta estabilidad química y física adecuada para la formulación como medicamentos para inhalación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

De este modo, en un aspecto de la invención se proporciona un compuesto de la fórmula (I):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, incluyendo todos los estereoisómeros y tautómeros del mismo.

El "Compuesto de la fórmula (I)" también puede denominarse en la presente "Compuesto (I)".

En otro aspecto de la invención se proporciona el Compuesto (I) tal como se definió anteriormente como la base libre.

En otro aspecto de la invención se proporciona el Compuesto (I) tal como se definió anteriormente como la base libre anhidra.

En otro aspecto de la invención se proporciona el Compuesto (I) tal como se definió anteriormente como la base libre anhidra en forma sólida cristalina.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona el Compuesto (I) tal como se definió anteriormente como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina A.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona el Compuesto (I) tal como se definió anteriormente como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra una difracción de rayos X de polvo (XRPD, por sus siglas en inglés) obtenida a partir de una muestra del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina A.

La Figura 2 muestra un patrón de XRPD obtenido a partir de una muestra del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización.

La Figura 3 muestra los resultados del análisis termogravimétrico de una muestra del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización.

La Figura 4 representa gráficos de la isoterma dinámica de absorción de vapor (DVS, por sus siglas en inglés) provenientes de muestras del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización.

La Figura 5 representa los resultados de un experimento de histéresis llevado a cabo en el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización, para determinar el grado y la velocidad de absorción/desorción de humedad a través del tiempo en contra de los cambios en la

humedad relativa.

La Figura 6 es el espectro infrarrojo (IR) obtenido de una muestra del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B luego de la micronización.

La Figura 7 muestra el análisis térmico de una muestra del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B (micronizada) por calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El compuesto de la fórmula (I) divulgado en la presente es: 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(4-(2-(fenilamino)pirimidin-4-iloxi)naftalen-1-il)urea. Los ejemplos de sales del Compuesto (I) incluyen todas las sales farmacéuticamente aceptables tales como, sin limitación, la sales de adición de ácido de ácidos minerales fuertes tales como las sales de HCl y HBr y las sales de adición de ácidos orgánicos fuertes tales como el ácido metanosulfónico.

Como se emplea en la presente a continuación, la definición de un compuesto de la fórmula (I) tiene el propósito de incluir sales, solvatos, y todos los tautómeros de dicho compuesto, a menos que el contexto indique específicamente lo contrario. Los ejemplos de solvatos incluyen hidratos.

La invención proporcionada en la presente se extiende a profármacos del compuesto de la fórmula (I), es decir compuestos que se descomponen y/o metabolizan *in vivo* para proporcionar un compuesto activo de la fórmula (I). Los ejemplos generales de profármacos incluyen ésteres simples, y otros ésteres tales como ésteres mixtos de carbonato, carbamatos, glicósidos, éteres, acetales y cetales.

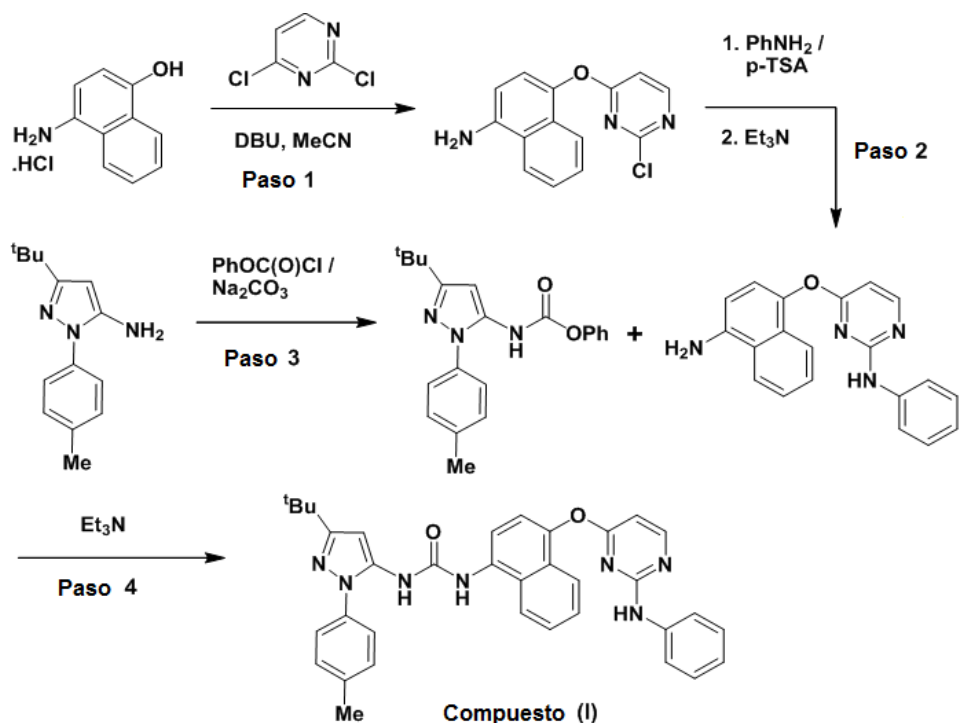
La invención abarca todos los derivados isotópicos del Compuesto (I). De este modo, la invención abarca compuestos que son compuestos del Compuesto (I) que tienen uno o más átomos que han sido reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico muy

comúnmente encontrado en la naturaleza, o en el que ha aumentado la proporción de un átomo que tiene una masa atómica o número másico encontrado menos comúnmente en la naturaleza (este último concepto se conoce como "enriquecimiento isotópico"). Por lo tanto, los compuestos de la descripción incluyen aquellos compuestos en los que el átomo especificado es un isótopo de origen natural o de origen no natural. En una modalidad, el isótopo es un isótopo estable. De este modo, los compuestos de la descripción incluyen, por ejemplo compuestos que contienen deuterio y similares. Por lo tanto, en una modalidad de la invención, el Compuesto (I) contiene un nivel enriquecido de deuterio en uno o más átomos de hidrógeno (por ejemplo, para un átomo de hidrógeno dado, el nivel del isótopo de deuterio es superior al 20%, 50%, 75%, 90%, 95% o 99% en número). Los ejemplos de otros isótopos que se pueden incorporar en el Compuesto (I) o enriquecer en el Compuesto (I) incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor, yodo y cloro tales como ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{123}I o ^{125}I , que pueden ser isótopos de origen natural o de origen no natural.

En un aspecto adicional de la invención se proporcionan uno o más metabolitos del compuesto de la fórmula (I), en particular un metabolito que retiene una o más de las actividades terapéuticas del compuesto de la fórmula (I). Un metabolito, como se emplea en la presente, es un compuesto que se produce *in vivo* a partir del metabolismo del compuesto de la fórmula (I) tal como, sin limitación, los metabolitos oxidativos y/o los metabolitos generados, por ejemplo, a partir de la O-desalquilación.

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

Una ruta adecuada para la preparación del compuesto de la fórmula (I) se muestra a continuación (Esquema 1).

ESQUEMA 1

Los grupos protectores pueden ser necesarios para proteger grupos químicamente sensibles durante una o más de las reacciones descritas anteriormente, para asegurar que el procedimiento se pueda llevar a cabo y/o sea eficiente. De este modo, si se desea o es necesario, los compuestos intermedios pueden estar protegidos por el uso de grupos protectores convencionales. Los grupos protectores y los medios para su eliminación se describen en "Protective Groups in Organic Synthesis", por Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts, publicado por John Wiley & Sons Inc, 4ta. edición revisada, 2006, ISBN-10: 0471697540.

El Ejemplo 1 proporciona una preparación detallada del Compuesto (I).

Los compuestos intermedios novedosos descritos en la presente forman un aspecto de la invención.

En otro aspecto de la invención se proporciona el Compuesto (I) como la base libre anhidra en forma sólida cristalina. En un aspecto adicional de la invención se proporciona el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina A que se puede obtener, por ejemplo, a través de la cristalización del Compuesto (I) a partir de acetato de isopropilo. En un aspecto particular de la invención se proporciona el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica

sólida cristalina B que se puede obtener, por ejemplo, a través de la cristalización del Compuesto (I) a partir de acetona y agua. Una proporción típica de acetona y agua que es adecuada para este procedimiento es de entre 5:1 y 200:1, por ejemplo, alrededor de 10:1. Alternativamente, la forma B se puede obtener a través de la cristalización del Compuesto (I) a partir de acetona sola. Las preparaciones detalladas del Compuesto (I) como la base libre anhidra en formas polimórficas sólidas cristalinas A y B se proporcionan en los Ejemplos 1 y 3 de la Sección Experimental, respectivamente.

En un aspecto adicional de la invención, las propiedades del estado sólido del Compuesto (I) se pueden mejorar mediante pasos adicionales de suspensión o recristalización para producir, por ejemplo, material con morfología mejorada y/o que contiene un nivel reducido de solvente residual. Por ejemplo, el solvente residual se puede eliminar del Compuesto (I) como base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B a través de la suspensión del Compuesto (I) en la forma polimórfica B, en agua, o, alternativamente a través de la recristalización adicional a partir de acetona. Una descripción detallada de un procedimiento de suspensión a modo de ejemplo se proporciona en el Ejemplo 3a de la Sección Experimental.

En una modalidad, se proporciona una forma polimórfica sólida cristalina A del Compuesto (I) como la base libre anhidra que tiene un patrón de XRPD sustancialmente como se muestra en la Figura 1. El método de obtención de datos de XRPD se describe en Métodos Analíticos y los datos se describen en el Ejemplo 5.

Por lo tanto se proporciona el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina A que tiene un patrón de XRPD con por lo menos uno (por ejemplo uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince o dieciséis) pico(s) a 7.8, 8.7, 10.3, 11.2, 12.4, 15.2, 16.2, 17.5, 19.7, 20.8, 22.6, 23.1, 24.6, 25.5, 26.7, 27.4 ($\pm 0,2$ grados, valores 2-theta), estos picos son característicos de la forma polimórfica sólida cristalina A. Los picos a 10.3, 15.2, 17.5, 23.1, 24.6, 26.7 y 27.4 son particularmente característicos de la forma polimórfica sólida cristalina A y, por lo tanto, es preferible que por lo menos uno (por ejemplo uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete) de estos picos sea observable en el

patrón de XRPD.

En otra modalidad se proporciona una forma polimórfica sólida cristalina B del Compuesto (I) como la base libre anhidra (micronizada) que tiene un patrón de XRPD sustancialmente como se muestra en la Figura 2. El método de micronización se describe en el Ejemplo 4 y los métodos de obtención de datos de XRPD se describen en Métodos Analíticos y los datos se describen en el Ejemplo 5.

Por lo tanto se proporciona el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B (micronizada) que tiene un patrón de XRPD con por lo menos uno (por ejemplo uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, dieciséis, diecisiete o dieciocho) picos a 3.9, 6.1, 7.7, 8.6, 10.9, 11.8, 12.7, 14.3, 15.9, 16.7, 18.3, 18.7, 19.9, 20.9, 22.0, 22.6, 25.2, 28.9 (± 0.2 grados, valores 2 θ), estos picos son característicos de la forma polimórfica sólida cristalina B. Los picos a 3.9, 6.1, 11.8, 14.3, 16.7, 18.3, 18.7 y 28.9 son particularmente característicos de la forma polimórfica sólida cristalina B y, por lo tanto, es preferible que por lo menos uno (por ejemplo uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho) de estos picos sea observable en el patrón de XRPD.

Los puntos de fusión del Compuesto (I) como la base libre anhidra en formas polimórficas sólidas cristalinas A y B se determinaron utilizando calorimetría diferencial de barrido tal como se describe en el Ejemplo 6. Se descubrió que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina A tenía un punto de fusión de 191.6°C y se descubrió que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en polimórfica sólida cristalina B tenía un punto de fusión de 214°C. También se descubrió que la forma polimórfica B tenía un calor de fusión mayor que la forma polimórfica A. Como se explica en el Ejemplo 6, estos resultados sugieren que la forma polimórfica B es termodinámicamente más estable que la forma polimórfica A.

Se investigaron las estabilidades físicas y químicas del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, cuyos resultados se describen en la presente.

Con el fin de evaluar la estabilidad física, el Compuesto (I) como la base

libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B se micronizó siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 4, y las muestras del material resultante se almacenaron en recipientes abiertos y se sometieron a distintas temperaturas ambientales y humedades relativas. Las propiedades físicas y las estabilidades de las muestras se investigaron utilizando análisis de TGA, DSC, DVS, espectroscopia IR y XRPD. Los procedimientos experimentales completos se proporcionan en la sección de Procedimientos Generales y los resultados se resumen en el Ejemplo 7 (Cuadro 7). Como se describe en el Ejemplo 7 se encontró que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B (micronizada) tiene buena estabilidad física. Los mismos procedimientos experimentales se llevaron a cabo también utilizando el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B en forma no micronizada y se encontró que los resultados son sustancialmente similares a los obtenidos para el material micronizado, es decir se encontró que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B en ambas formas micronizada y no micronizada tiene buena estabilidad física.

Con el fin de evaluar la estabilidad química, el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B se micronizó siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 4. Las muestras micronizadas se almacenaron en recipientes abiertos y se sometieron a distintas temperaturas ambientales y humedades relativas. Las estabilidades químicas de las muestras se analizaron por HPLC. Los resultados se resumen en el Ejemplo 8 (Cuadro 8) en donde se indica que se encontró que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización, es químicamente estable, a pesar de que se detectó cierta sensibilidad a la luz.

Como resultado de los estudios de estado sólido descritos en la presente, se concluye que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B se puede micronizar y que el material resultante tiene buena estabilidad física y química.

El compuesto de la fórmula (I) es un inhibidor de la p38 MAP cinasa (especialmente del subtipo alfa) y, en un aspecto, el compuesto es útil en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, por ejemplo COPD y/o asma.

Curiosamente, el compuesto exhibe una mayor duración de acción y/o persistencia de acción en comparación con otros inhibidores de la p38 MAP cinasa divulgados anteriormente tales como, por ejemplo, BIRB796.

La acción prolongada, como se utiliza en la presente, se refiere a la tasa de disociación o constante de disociación del compuesto desde la diana (tal como un receptor). Una baja tasa de disociación puede dar lugar a la persistencia.

Una baja tasa de disociación en combinación con una alta tasa de asociación tiende a proporcionar entidades terapéuticas potentes.

Se espera que el compuesto de la fórmula (I) sea potente *in vivo*.

Generalmente, los compuestos de la técnica anterior desarrollados hasta la fecha han sido destinados a la administración oral. Esta estrategia consiste en la optimización de compuestos que logran su duración de acción por un perfil farmacocinético adecuado asegurando, de ese modo, que una concentración suficientemente alta de fármaco se establezca y mantenga entre las dosis para proporcionar un beneficio clínico. La consecuencia inevitable de este enfoque es que todos los tejidos corporales, y especialmente el hígado y el intestino, están expuestos a concentraciones supra-terapéuticamente activas del fármaco, se vean o no adversamente afectados por la enfermedad a tratar.

Una estrategia alternativa consiste en diseñar paradigmas de tratamiento en los cuales el fármaco se administra directamente en el órgano inflamado (tratamiento tópico). Aunque este enfoque no es adecuado para tratar todas las enfermedades inflamatorias crónicas, se ha explotado ampliamente en las enfermedades pulmonares (asma, COPD), enfermedades de la piel (dermatitis atópica y psoriasis), enfermedades nasales (rinitis alérgica) y trastornos gastrointestinales (colitis ulcerosa).

En la terapia tópica, la eficacia se puede lograr ya sea asegurando que el

fármaco tenga una duración de acción prolongada y esté retenida en el órgano pertinente para reducir al mínimo los riesgos de toxicidad sistémica o produciendo una formulación que genera un "depósito" de la fármaco activa que está disponible para mantener sus efectos deseados. El primer enfoque se ejemplifica con el fármaco anticolinérgico tiotropio (Spiriva). Este compuesto se administra por vía tópica al pulmón como tratamiento para la COPD, y tiene una afinidad excepcionalmente alta por su receptor diana, lo que resulta en una tasa de disociación muy lenta y una consecuente duración de acción prolongada.

En un aspecto de la descripción, el compuesto de la fórmula (I) es particularmente adecuado para la administración tópica, tal como la administración tópica a los pulmones, en particular para el tratamiento de enfermedades respiratorias, por ejemplo las enfermedades respiratorias crónicas tales como COPD y/o asma.

En una modalidad, el compuesto de la fórmula (I) es adecuado para pacientes sensibles al tratamiento con un corticosteroide que se han vuelto refractarios a dichos regímenes de tratamiento.

El compuesto de la fórmula (I) también puede ser útil para el tratamiento de la artritis reumatoide.

El compuesto de la fórmula (I) puede tener propiedades antivirales, por ejemplo la capacidad de prevenir la infección de células (tales como las células epiteliales respiratorias) con un picornavirus, en particular un rinovirus, influenza o el virus respiratorio sincicial.

Por lo tanto, se cree que el compuesto es un agente antiviral, en particular adecuado para la prevención, tratamiento o mejora de las infecciones por picornavirus, tales como la infección por rinovirus, influenza o el virus respiratorio sincicial.

En una modalidad, el compuesto de la fórmula (I) es capaz de reducir la inflamación inducida por la infección viral, tal como la infección por rinovirus y en particular las infecciones virales que tienen como resultado la liberación de citocinas tales como IL-8, especialmente *in vivo*. Por ejemplo, esta actividad puede ser evaluada *in vitro* empleando un ensayo de IL-8 inducido por rinovirus como se describe en los

Ejemplos de la presente.

En una modalidad, el compuesto de la fórmula (I) es capaz de reducir la expresión ICAM1 expresión inducida por rinovirus, especialmente *in vivo*. ICAM1 es el mecanismo receptor utilizado por los así denominados principales serotipos de rinovirus ranura para infectar las células. Esta actividad se puede medir, por ejemplo, por un método descrito en los Ejemplos de la presente.

Se espera que las propiedades anteriores logren que el compuesto de la fórmula (I) sea particularmente adecuado para utilizar en el tratamiento y/o profilaxis de las exacerbaciones de enfermedades inflamatorias, en particular las exacerbaciones virales, en pacientes con una o más de las siguientes afecciones crónicas tales como la insuficiencia cardíaca congestiva, COPD, asma, diabetes, cáncer y/o en pacientes inmunodeprimidos, por ejemplo luego del trasplante de órganos.

En particular, el compuesto de la fórmula (I) puede ser útil en el tratamiento de uno o más trastornos respiratorios incluyendo COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, especialmente asma, y COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema).

El compuesto de la fórmula (I) también puede ser útil en el tratamiento de una o más afecciones que se pueden tratar mediante tratamiento tópico o local, incluyendo conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, articulaciones inflamadas secundarias a artritis reumatoide o a osteoartritis.

También se espera que el compuesto de la fórmula (I) pueda ser útil en el tratamiento de otras afecciones determinadas, incluyendo artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno.

El compuesto de la fórmula (I) puede ser útil en el tratamiento de enfermedades o trastornos oculares, incluyendo conjuntivitis alérgica, conjuntivitis,

retinopatía diabética, edema macular (incluyendo edema macular húmedo y edema macular seco), inflamación de catarata posoperativa o, particularmente, uveítis (incluyendo uveítis posterior, anterior y entera).

El compuesto de la fórmula (I) puede ser útil en el tratamiento de enfermedades o trastornos gastrointestinales incluyendo la colitis ulcerativa o la enfermedad de Crohn.

El compuesto de la fórmula (I) también puede re-sensibilizar la afección del paciente al tratamiento con un corticosteroide, cuando la afección del paciente se ha vuelto refractaria al mismo.

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

La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar dicha composición farmacéutica que comprende la mezcla de los ingredientes.

Los diluyentes y portadores pueden incluir aquellos que son adecuados para la administración parenteral, oral, tópica, mucosal y rectal.

Como se ha mencionado anteriormente, dichas composiciones pueden prepararse por ejemplo, para administración parenteral, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intra-articular o peri-articular, particularmente en forma de soluciones o suspensiones líquidas; para administración oral, particularmente en forma de comprimidos o cápsulas; para administración tópica, por ejemplo administración pulmonar o intranasal, particularmente en forma de polvos, gotas nasales o aerosoles y administración transdérmica; para administración mucosal, por ejemplo bucal, sublingual o mucosa vaginal, y para administración rectal, por ejemplo en forma de supositorio.

Las composiciones pueden administrarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo como se describe en Remington's

Pharmaceutical Sciences, 17ma. ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985).

Las formulaciones para administración parenteral pueden contener como excipientes agua estéril o solución salina, alquilenglicoles tales como propilenglicol, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y similares. Las formulaciones para administración nasal pueden ser sólidas y pueden contener excipientes, por ejemplo, lactosa o dextrano, o pueden ser soluciones acuosas u oleosas para utilizar en forma de gotas nasales o aerosoles de dosificación medida. Para la administración bucal, los excipientes típicos incluyen azúcares, estearato de calcio, estearato de magnesio, almidón pregelatinizado, y similares.

Las composiciones adecuadas para administración oral pueden comprender uno o más portadores y/o excipientes fisiológicamente compatibles y pueden estar en forma sólida o líquida. Los comprimidos y cápsulas se pueden preparar con agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, goma arábica, gelatina, sorbitol, tragacanto, o polivinilpirrolidona; agentes de relleno, tales como lactosa, sacarosa, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricantes, tales como estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice; y agentes tensoactivos, tales como lauril sulfato de sodio. Las composiciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo jarabe de sorbitol, metilcelulosa, jarabe de azúcar, gelatina, carboximetil celulosa, o grasas comestibles; agentes emulsionantes tales como lecitina o goma arábica; aceites vegetales tales como aceite de almendra, aceite de coco, aceite de hígado de bacalao o aceite de maní; conservantes, tales como hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT). Las composiciones líquidas se pueden encapsular en, por ejemplo, gelatina para proporcionar una forma de dosificación unitaria.

Las formas de dosificación sólida oral incluyen comprimidos, cápsulas de envoltente dura de dos piezas y cápsulas blandas de gelatina elástica (SEG, por sus siglas en inglés).

Una formulación de envoltente seca comprende generalmente

aproximadamente 40% a 60% p/p de concentración de gelatina, aproximadamente una concentración de 20% a 30% de plastificante (tal como glicerina, sorbitol o propilenglicol) y aproximadamente una concentración de 30% a 40% de agua. Otros materiales tales como conservantes, colorantes, opacificantes y saborizantes también pueden estar presentes. El material de relleno líquido comprende un fármaco sólido que se ha disuelto, solubilizado o dispersado (con agentes de suspensión tales como cera de abejas, aceite de ricino hidrogenado o polietilenglicol 4000) o un fármaco líquido en vehículos o combinaciones de vehículos tales como aceite mineral, aceites vegetales, triglicéridos, glicoles, polioles y agentes de superficie activa.

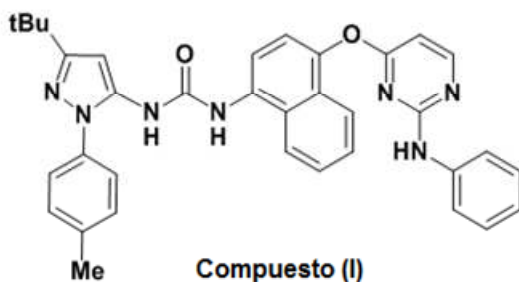
Convenientemente, el compuesto de la fórmula (I) se administra tópicamente al pulmón. Por lo tanto, los inventores proporcionan, de acuerdo con la invención, una composición farmacéutica que comprende el Compuesto (I) de la descripción opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o portadores tópicamente aceptables. La administración tópica en el pulmón se puede lograr mediante el uso de una formulación de aerosol. Las formulaciones de aerosol generalmente comprenden el ingrediente activo suspendido o disuelto en un propelente de aerosol adecuado, tal como un clorofluorocarbono (CFC) o un hidrofluorocarbono (HFC). Los propelentes de CFC adecuados incluyen tricloromonofluorometano (propelente 11), dichlorotetrafluoro metano (propelente 114), y diclorodifluorometano (propelente 12). Los propelentes de HFC adecuados incluyen tetrafluoroetano (HFC-134a) y heptafluoropropano (HFC-227). El propelente generalmente comprende 40% a 99.5%, por ejemplo 40% a 90% en peso de la composición de inhalación total. La formulación puede comprender excipientes, incluyendo co-solventes (por ejemplo, etanol) y agentes tensoactivos (por ejemplo, lecitina, trioleato de sorbitán y similares). Las formulaciones de aerosol se envasan en recipientes y una dosis adecuada se suministra por medio de una válvula de dosificación (por ejemplo, suministrada por Bepak, Valois o 3M).

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

Esta dosis se puede administrar por medio de un nebulizador. Los nebulizadores pueden ser portátiles o no portátiles. La administración tópica en el pulmón también se puede lograr mediante el uso de una formulación de polvo seco. Una formulación de polvo seco contendrá el compuesto de la descripción en forma finamente dividida, generalmente con un diámetro aerodinámico de masa media (MMAD) de 1–10 μm . La formulación contendrá típicamente un diluyente tópicamente aceptable, tal como lactosa, generalmente de mayor tamaño de partícula, por ejemplo un MMAD de 50 μm o más, por ejemplo 100 μm o más. Un diluyente alternativo tópicamente aceptable es manitol. Los ejemplos de sistemas de administración de polvo seco incluyen SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS y CLICKHALER. Otros ejemplos de sistemas de inhaladores de polvo seco incluyen ECLIPSE, ROTAHALER, HANDIHALER, AEROLISER, CYCLOHALER, BREEZHALER/NEOHALER, FLOWCAPS, TWINCAPS, X-CAPS, TURBOSPIN, ELPENHALER, TURBUHALER, MIATHALER, TWISTHALER, NOVOLIZER, SKYEHALER, inhalador de polvo seco ORIEL, MICRODOSE, ACCUHALER, PULVINAL, EASYHALER, ULTRAHALER, TAIFUN, PULMOJET, OMNIHALER, GYROHALER, TAPER, CONIX, XCELOVAIR y PROHALER.

Un aspecto de la invención se refiere a una formulación farmacéutica de polvo seco para inhalación, que comprende:

(i) Compuesto (I)



que es 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(4-(2-(fenilamino)pirimidin-4-iloxi)naftalen-1-il)urea o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, incluyendo todos los estereoisómeros y tautómeros del mismo, en forma

particulada (por ejemplo, Forma sólida cristalina B) como ingrediente activo.

(ii) lactosa particulada como portador; y

(iii) una sal metálica particulada de ácido esteárico, tal como estearato de magnesio.

La invención también proporciona un dispositivo de inhalación que comprende una o más dosis de dicha formulación.

El compuesto de la fórmula (I) tiene actividad terapéutica. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la descripción para utilizar como un medicamento. Por lo tanto, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto tal como se describe en la presente para utilizar en el tratamiento de una o más de las afecciones mencionadas anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso del Compuesto (I) tal como se describe en la presente para la elaboración de un medicamento para el tratamiento⁶ de una o más de las afecciones mencionadas anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una o más de las afecciones mencionadas anteriormente, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz del Compuesto (I) de la descripción o una composición farmacéutica que comprende el compuesto.

La palabra "tratamiento" tiene el propósito de incluir la profilaxis así como también el tratamiento terapéutico.

El Compuesto (I) de la invención también se puede administrar en combinación con uno o más de otros ingredientes activos, por ejemplo, ingredientes activos adecuados para el tratamiento de las afecciones mencionadas anteriormente. Por ejemplo, las combinaciones posibles para el tratamiento de trastornos respiratorios incluyen combinaciones con esteroides (por ejemplo, budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, furoato de mometasona, furoato de fluticasona), agonistas beta (por ejemplo, terbutalina, salbutamol, salmeterol, formoterol) y/o xantinas (por ejemplo teofilina). Otros ingredientes activos adecuados

incluyen anticolinérgicos, tales como tiotropio y agentes antivirales tales como, pero sin limitarse a, zanamivir u oseltamivir, por ejemplo como el fosfato. Otros agentes antivirales incluyen peramivir y laninamivir. Otras posibles combinaciones para el tratamiento de trastornos respiratorios incluyen combinaciones con esteroides tales como flunisolida, ciclesonida y triamcinolona; agonistas beta tales como bambuterol, levalbuterol, clenbuterol, fenoterol, broxaterol, indacaterol, reproterol, procaterol y vilanterol; antagonistas muscarínicos (por ejemplo, ipratropio, tiotropio, oxitropio, glicopirronio, glicopirrolato, aclidinio, trospio) y antagonistas leucotrienos (por ejemplo, zafirlukast, pranlukast, zileuton, montelukast). Se entenderá que cualquiera de los ingredientes activos mencionados anteriormente se puede emplear en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

En una modalidad, el compuesto de la fórmula (I) y el(los) otro(s) ingrediente(s) activo(s) se formulan conjuntamente en la misma formulación farmacéutica. En otra modalidad, el(los) otro(s) ingrediente(s) activo(s) se administran en una o más formulaciones farmacéuticas separadas.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención proporciona un producto de combinación que comprende:

(A) un compuesto de la presente invención (es decir, un compuesto de la fórmula (I) como se definió anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo); y

(B) otro agente terapéutico,

donde cada uno de los componentes (A) y (B) está formulado en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

En este aspecto de la invención, el producto de combinación puede ser o bien un sola formulación farmacéutica (combinación) o un kit de partes.

Por lo tanto, este aspecto de la invención comprende una formulación farmacéutica que incluye un compuesto de la presente invención y otro agente terapéutico, en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable (cuya formulación se denomina de aquí en adelante "preparación combinada").

También abarca un kit de partes que comprende componentes:

(i) una formulación farmacéutica que incluye un compuesto de la presente invención en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable; y

(ii) una formulación farmacéutica que incluye otro agente terapéutico, en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable,

cuyos componentes (i) y (ii) se proporcionan cada uno en una forma que es adecuada para la administración en conjunto con el otro.

El componente (i) del kit de partes es, por lo tanto, el componente (A) anterior en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. En forma similar, el componente (ii) es el componente (B) anterior en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

El otro agente terapéutico (es decir, el componente (B) anterior) puede ser, por ejemplo, cualquiera de los ingredientes activos mencionados anteriormente en relación con el tratamiento de trastornos respiratorios.

Los datos presentados en la presente, a continuación, que están relacionados con las propiedades antivirales del compuesto de la fórmula (I) proporcionan evidencia de que otros tratamientos antivirales en combinación con un compuesto de la fórmula (I) serían útiles en el tratamiento o la prevención de las exacerbaciones inducidas por virus (por ejemplo, las infecciones respiratorias virales) que sufren los pacientes con enfermedades respiratorias tales como COPD y/o asma y/o una o más de las indicaciones mencionadas anteriormente. De este modo, en un aspecto se proporciona el uso del Compuesto (I) en combinación con un tratamiento antiviral tal como, pero sin limitarse a, zanamavir u oseltamivir (por ejemplo, fosfato de oseltamivir) en el tratamiento o la prevención de las infecciones respiratorias virales que sufren los pacientes con enfermedades respiratorias tales como COPD y/o asma.

Los inventores también creen que otros tratamientos antivirales en combinación con el Compuesto (I) serían útiles en el tratamiento o la prevención de las exacerbaciones inducidas por virus (por ejemplo, infecciones respiratorias virales) en

pacientes con afecciones crónicas distintas de las enfermedades respiratorias, por ejemplo afecciones tales como insuficiencia cardíaca congestiva, diabetes, cáncer, o afecciones sufridas por pacientes inmunodeprimidos, por ejemplo después de un trasplante de órgano. Por lo tanto, en un aspecto adicional, se proporciona el uso de un compuesto de la invención en combinación con una terapia antiviral, tal como, pero no limitado a, zanamavir o oseltamivir (por ejemplo fosfato de oseltamivir), en el tratamiento o prevención de las infecciones respiratorias virales en pacientes con condiciones crónicas como la insuficiencia cardíaca congestiva, la diabetes, el cáncer, o en condiciones que sufren los pacientes inmunodeprimidos, por ejemplo luego del trasplante de un órgano.

Sección experimental

Las abreviaturas utilizadas en la presente se definen a continuación (Cuadro 1). Las abreviaturas no definidas tienen el propósito de transmitir su significado generalmente aceptado.

CUADRO 1**Abreviaturas**

AcOH	ácido acético glacial
Ac	acuoso
ATP	adenosina–5'–trifosfato
BALF	líquido de lavado broncoalveolar
BEGM	medio de crecimiento celular epitelial bronquial
br	ancho
BSA	albúmina de suero bovino
CatCart®	cartucho catalítico
CDI	1,1–carbonil–diimidazol
COPD	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
CXCL1	ligando 1 de quimiocina (motivo C–X–C)
d	doblete
DCM	diclorometano
DMSO	sulfóxido de dimetilo
DSC	calorimetría diferencial de barrido
células d– U937	células U–937 diferenciadas con PMA
DVS	absorción dinámica de vapor
(ES ⁺)	ionización por electroaspersión, en modo positivo
Et	etilo
EtOAc	acetato de etilo
FCS	suero de ternera fetal
FRET	transferencia de energía por resonancia de fluorescencia
GSK3 α	glucógeno sintasa cinasa 3 α
HBEC	células epiteliales bronquiales humanas primarias
h	hora(s)
HRP	peroxidasa de rábano
HRV	rinovirus humano
ICAM–1	molécula de adherencia intercelular 1

IR	infrarrojo
JNK	cinasa c-Jun N-terminal
KC	quimioatrayente de queratinocitos
Kd	constante de disociación
LPS	Lipopolisacárido
(M+H) ⁺	ion molecular protonado
MAPK	proteína cinasa activada por proteína de mitógenos
MAPKAP- K2	proteína cinasa-2 activada por proteína cinasa activada por mitógenos
Me	metilo
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
MHz	megahertz
min	minuto(s)
MIP1 α	proteína 1 alfa inflamatoria de macrófagos
MMAD	diámetro aerodinámico de masa media
MOI	multiplicidad de infección
p.f.	punto de fusión
MTT	bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio
m/z:	relación entre masa y carga
RMN	resonancia magnética nuclear (espectroscopia)
PBMC	célula mononuclear de sangre periférica
PBS	solución salina tamponada con fosfato
Ph	fenilo
PHA	fitohemaglutinina
PMA	acetato de forbol miristato
pTSA	ácido 4-metilbencenosulfónico
q	cuarteto
TA	temperatura ambiente
RP HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento en fase reversa
RSV	virus respiratorio sincicial
s	singlete
sat	saturado
SCX	intercambio catiónico soportado en un sólido (resina)
SDS	dodecil sulfato de sodio

S _N Ar	sustitución aromática nucleofílica
t	triplete
TCID ₅₀	dosis infecciosa de cultivo de tejido 50%
TGA	análisis termogravimétrico
THF	tetrahidrofurano
TNFα	factor alfa de necrosis tumoral
XRPD	difracción de rayos X de polvo

Procedimientos Generales

Todos los materiales de partida y solventes se obtuvieron de fuentes comerciales o se prepararon de acuerdo con la referencia bibliográfica. A menos que se indique lo contrario, todas las reacciones se agitaron. Las soluciones orgánicas se secaron de rutina sobre sulfato de magnesio anhidro. Las hidrogenaciones se llevaron a cabo en un reactor de flujo de Thales H-cube en las condiciones indicadas. La cromatografía en columna se llevó a cabo sobre cartuchos de sílice pre-ensado (230–400 tamiz, 40–63 μm) utilizando la cantidad indicada. SCX se adquirió de Supelco y se trató con ácido clorhídrico 1M antes del uso. A menos que se indique lo contrario, la mezcla de reacción a purificar se diluyó primero con MeOH y se acidificó con algunas gotas de AcOH. Esta solución se cargó directamente en el SCX y se lavó con MeOH. El material deseado luego se eluyó lavando con 1% de NH₃ en MeOH.

Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento en Fase Reversa Preparativa:

Columna Agilent Scalar C18, 5 m (21.2 x 50 mm), caudal de 28 mL min⁻¹ eluyendo con un gradiente de H₂O–MeCN que contenía 0.1% v/v de ácido fórmico durante 10 min, utilizando detección UV a 215 y 254 nm. Información del Gradiente: 0.0–0.5 min; 95% H₂O–5% MeCN; 0.5–7.0 min; se elevó desde 95% H₂O–5% MeCN a 5% H₂O–95% MeCN; 7.0–7.9 min; se mantuvo a 5% H₂O–95% MeCN; 7.9–8.0 min; retornó a 95% H₂O–5% MeCN; 8.0–10.0 min; se mantuvo a 95% H₂O–5% MeCN.

Métodos Analíticos

Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento en Fase Reversa: (Método 1):

Columna Agilent Scalar C18, 5 μm (4.6 x 50 mm) o Waters XBridge C18, 5 μm (4.6 x 50

mm) caudal de 2.5 mL min^{-1} eluyendo con un gradiente de H_2O –MeCN que contenía 0.1% v/v de ácido fórmico (ácido del Método 1) o NH_3 (Método 1 básico) durante 7 min empleando detección UV a 215 y 254 nm. Información del Gradiente: 0.0–0.1 min, 95% de H_2O –5% de MeCN; 0.1–5.0 min, se elevó desde 95% de H_2O –5% de MeCN a 5% de H_2O –95% de MeCN; 5.0–5.5 min, se mantuvo a 5% de H_2O –95% de MeCN; 5.5–5.6 min, se mantuvo a 5% de H_2O –95% de MeCN, el caudal aumentó a 3.5 mL min^{-1} ; 5.6–6.6 min, se mantuvo a 5% de H_2O –95% de MeCN, caudal de 3.5 mL min^{-1} ; 6.6–6.75 min, retornó a 95% de H_2O –5% de MeCN, caudal de 3.5 mL min^{-1} ; 6.75–6.9 min, se mantuvo a 95% de H_2O –5% de MeCN, caudal de 3.5 mL min^{-1} ; 6.9–7.0 min, se mantuvo a 95% de H_2O –5% de MeCN, el caudal disminuyó hasta 2.5 mL min^{-1} .

Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento en Fase Reversa: (Método 2)

Columna Agilent Extend C18, $1.8 \mu\text{m}$ ($4.6 \times 30 \text{ mm}$) a 40°C ; caudal de 2.5 – 4.5 mL min^{-1} eluyendo con un gradiente de H_2O –MeCN que contenía 0.1% v/v de ácido fórmico durante 4 min empleando detección UV a 254 nm. Información del Gradiente: 0–3.00 min, se elevó desde 95% de H_2O –5% de MeCN a 5% de H_2O –95% de MeCN; 3.00–3.01 min, se mantuvo a 5% de H_2O –95% de MeCN, el caudal aumentó a 4.5 mL min^{-1} ; 3.01–3.50 min, se mantuvo a 5% de H_2O –95% de MeCN; 3.50–3.60 min, retornó a 95% de H_2O –5% de MeCN, el caudal disminuyó hasta 3.50 mL min^{-1} ; 3.60–3.90 min, se mantuvo a 95% de H_2O –5% de MeCN; 3.90–4.00 min, se mantuvo a 95% de H_2O –5% de MeCN, el caudal disminuyó hasta 2.5 mL min^{-1} .

Espectroscopía de ^1H RMN

Los espectros se obtuvieron en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz utilizando el solvente residual no deuterado como referencia.

Absorción Dinámica de Vapor

Los gráficos se obtuvieron empleando un modelo DVS–1 de absorción dinámica de vapor de Surface Measurement Systems utilizando aproximadamente 10

mg de la muestra. El cambio de peso se registró con respecto a la humedad atmosférica a 25°C y se determinó utilizando los siguientes parámetros: secado: 60 min en nitrógeno seco; equilibrio: 60 min/paso; intervalo de datos: 0.05% o 2.0 min. Los puntos de medición de la humedad relativa [% de HR] fueron los siguientes:

primera serie

5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10,

5

segunda serie

10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5,

0.

Difracción de Rayos X de Polvo

Los patrones se obtuvieron en un difractómetro PANalytical (Philips) X'PertPRO MPD equipado con un tubo de rayos X Cu LFF (45 kV; 40 mA; Bragg–Brentano; etapa spinner) y se obtuvieron utilizando radiación Cu K α en las condiciones de medición siguientes: modo de barrido: continuo, intervalo de barrido: 3 a 50° 2 θ , tamaño del paso: 0.02°/paso; tiempo de recuento: 30 seg/paso; tiempo de revolución del agitador centrífugo: 1 seg; trayecto del haz incidente: programa. rendija de divergencia: 15 mm; Rendija Soller: 0.04 rad; máscara del haz: 15 mm; rendija de antidispersión: 1°; cuchilla del haz: +; Trayecto del haz difractado: escudo largo de antidispersión: +; Rendija Soller: 0.04 rad; filtro Ni: +; detector: X'Celerator. Las muestras se prepararon mediante la dispersión en un portamuestras de fondo cero.

Espectroscopia Infrarroja

Se utilizó micro reflectancia total atenuada (microATR) y la muestra se analizó utilizando un accesorio microATR adecuado y las condiciones de medición siguientes: aparato: espectrómetro Thermo Nexus 670 FTIR; número de barridos: 32;

resolución: 1 cm^{-1} ; intervalo de longitud de onda: 4000 a 400 cm^{-1} ; detector: DTGS con ventanas de KBr; divisor de haz: Ge en KBr; micro accesorio ATR: Harrick Split Pea con cristal de Si.

Calorimetría Diferencial de Barrido

Los datos se recogieron en un aparato TA-Instruments Q1000 MTDSC equipado con una unidad de refrigeración RCS. Generalmente 3 mg de cada compuesto, en un platillo de muestra de aluminio estándar del aparato TA-Instrument, se calentó a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ desde 25°C a 300°C . Una purga de nitrógeno a $50\text{ mL}/\text{min}$ se mantuvo sobre la muestra.

Análisis Termogravimétrico

Los datos se recogieron en un termogravímetro TA-Instruments Q500. Generalmente 10 mg de cada muestra se transfirió a un platillo de aluminio previamente pesado y se calentó a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ desde temperatura ambiente a 300°C o $<80[(p/p)\%]$ a menos que se indique lo contrario.

Estabilidad Química por HPLC

Los análisis se llevaron a cabo en una columna de Waters XBridge C_{18} ($3.0 \times 150\text{ mm}$; $3.5\text{ }\mu\text{m}$) utilizando las siguientes condiciones de funcionamiento: temperatura de la columna: 40°C ; temperatura de la muestra: 5°C ; caudal: $0.45\text{ mL}/\text{min}$; volumen de inyección: $7\text{ }\mu\text{L}$; detección UV a 260 nm ; composición de la fase móvil compuesta por la Fase A: 10 mM de acetato de amonio + 0.1% , v/v de ácido trifluoroacético en agua y la Fase B: acetonitrilo, utilizando el gradiente definido por los parámetros siguientes (Cuadro 2).

CUADRO 2

Condiciones del Gradiente para los Estudios de Estabilidad Química por HPLC

Eluyente	% de la Composición en el Tiempo de Corrida (min)				
	0	20	25	26	32
Fase A	70	0	0	70	70
Fase B	30	100	100	30	30

Métodos experimentales para las pruebas biológicas

Ensayos de Inhibición de Enzimas

Las actividades de unión de las enzimas de cinasas de los compuestos divulgados en la presente se determinaron utilizando un ensayo privado que mide la unión competitiva a un ligando inmovilizado dirigida al sitio activo (Fabian, M.A. *et al.*, *Nature Biotechnol.*, 2005, **23**:329–336). Estos ensayos fueron llevados a cabo por DiscoverX (anteriormente Ambit; San Diego, CA). El valor de Kd (valor de la constante de disociación) se calculó como el índice de la afinidad de los compuestos a cada cinasa.

Ensayos de Inhibición de Enzimas

Las actividades inhibidoras de las enzimas de los compuestos divulgados en la presente se determinaron mediante FRET utilizando péptidos sintéticos marcados con ambos fluoróforos donante y aceptor (Z–LYTE, Invitrogen Ltd., Paisley, UK).

Inhibición de la Enzima p38 MAPKα

Las actividades inhibidoras de los compuestos de ensayo contra la isoforma p38 MAPKα (MAPK14: Invitrogen) se evaluaron indirectamente mediante la determinación del nivel de activación/fosforilación de la molécula corriente abajo, MAPKAP–K2. La proteína p38 MAPKα (80 ng/mL, 2.5 μL) se mezcló con el compuesto

de prueba (2.5 μ L de 4 μ g/mL, 0.4 μ g /mL, 0.04 μ g/mL o 0.004 μ g/mL) durante 2 h a TA. La solución de mezcla (2.5 μ L) de p38 α MAPKAP–K2 inactiva blanco (Invitrogen, 600 ng/mL) y el péptido FRET (8 μ M; un blanco de fosforilación para MAPKAP–K2) se agregó luego y la reacción de la cinasa se inició agregando ATP (40 μ M, 2.5 μ L). La mezcla se incubó durante 1 h a TA. El reactivo de desarrollo (proteasa, 5 μ L) se agregó durante 1 h antes de la detección en un lector de fluorescencia en microplacas (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific).

Inhibición de la Enzima p38 MAPK γ

Las actividades inhibitoras de los compuestos de la invención contra p38MAPK γ (MAPK12: Invitrogen) se evaluaron en una manera similar a la descrita en la presente anteriormente. La enzima (800 ng/mL, 2.5 μ L) se incubó con el compuesto de prueba (2.5 μ L a 4 μ g/mL, 0.4 μ g/mL, 0.04 μ g/mL o 0.004 μ g/mL) durante 2 h a TA. Los péptidos FRET (8 μ M, 2.5 μ L) y la solución de ATP apropiada (2.5 μ L, 400 μ M) luego se agregaron a las enzimas/mezclas de compuestos y se incubaron durante 1 h. El reactivo de desarrollo (proteasa, 5 μ L) se agregó durante 1 h antes de la detección en un lector de fluorescencia en microplacas (Varioskan® Flash, Thermo Scientific).

Inhibición de las Enzimas c–Src y Syk

Las actividades inhibitoras de los compuestos de la invención contra las enzimas c–Src y Syk (Invitrogen) se evaluaron en una manera similar a la descrita en la presente anteriormente. La enzima relevante (3000 ng/mL o 2000 ng/mL, respectivamente, 2.5 μ L) se incubó con el compuesto de prueba (ya sea 4 μ g/mL, 0.4 μ g/mL, 0.04 μ g/mL, o 0.004 μ g/mL, 2.5 μ L cada uno) durante 2 h a TA. Los péptidos FRET (8 μ M, 2.5 μ L) y las soluciones de ATP apropiadas (2.5 μ L, 800 μ M para c–Src, y 60 μ M de ATP para Syk) luego se agregaron a las enzima/mezclas de compuestos y se incubaron durante 1 h. El reactivo de desarrollo (proteasa, 5 μ L) se agregó durante 1 h antes de la detección en un lector de fluorescencia en microplacas (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific).

Inhibición de la Enzima GSK 3 α

Las actividades inhibidoras de los compuestos de prueba contra la isoforma de la enzima GSK 3 α (Invitrogen) se evaluaron determinando el nivel de activación/fosforilación del péptido diana. La proteína GSK3- α (800 ng/mL, 2.5 μ L) se mezcló con el compuesto de prueba (2.5 μ L a cualquiera de 4 μ g/mL, 0.4 μ g /mL, 0.04 μ g/mL o 0.004 μ g/mL) durante 2 h a TA. El péptido FRET (8 μ M, 2.5 μ L) que es una fosforilación diana para GSK3 α y ATP (40 mM, 2.5 μ L) se agregaron luego a la mezcla de enzima/compuesto y la mezcla resultante se incubó durante 1 h. El reactivo de desarrollo (proteasa, 5 μ L) se agregó durante 1 h antes de la detección en un lector de fluorescencia en microplacas (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific).

En todos los casos, la proteasa específica del sitio disocia sólo el péptido no fosforilado y elimina la señal de FRET. Los niveles de fosforilación de cada reacción se calcularon utilizando la relación de emisión de cumarina (donante) sobre la emisión de fluoresceína (aceptor), para los que las proporciones bajas indican fosforilación alta y las proporciones altas indican niveles bajos de fosforilación. El porcentaje de inhibición de cada reacción se calculó en relación con el control no inhibido y la concentración inhibidora 50% (el valor IC₅₀) luego se calculó a partir de la curva de concentración–respuesta.

Ensayos Celulares

Liberación de TNF α /IL–8 inducida por LPS en células d–U937

Células U937, una línea celular monocítica humana, se diferenciaron en células de tipo macrófago por incubación con PMA (100 ng/mL) durante 48 a 72 h. Las células se incubaron previamente con concentraciones finales del compuesto de prueba durante 2 h y luego se estimularon con LPS (0.1 μ g/mL; a partir de *E. Coli*: O111:B4, Sigma) durante 4 horas. Se recolectó el sobrenadante para la determinación de las concentraciones de TNF α e IL–8 por el método ELISA Sándwich (Duo–set, R&D Systems). La inhibición de la producción de TNF α se calculó como un porcentaje de la

inhibición alcanzada por 10 µg/mL de BIRB796 a cada concentración del compuesto de prueba por comparación con el vehículo de control. La concentración efectiva relativa 50% (REC₅₀) se determinó a partir de la curva de concentración–respuesta resultante. La inhibición de la producción de IL–8 se calculó a cada concentración del compuesto de prueba por comparación con el vehículo de control. La concentración inhibidora 50% (IC₅₀) se determinó a partir de la curva de concentración–respuesta resultante.

Liberación de TNFα inducida por LPS en células THP–1

Células THP–1, una línea celular monocítica humana, se estimularon con 3 µg/mL de LPS (a partir de *E. Coli*; 0111:B4, Sigma) durante 4 h y se recolectó el sobrenadante para la determinación de la concentración de TNFα por el método ELISA Sándwich (Duo–set, R&D Systems). La inhibición de la producción de TNFα se calculó a cada concentración por comparación con el vehículo de control. La concentración inhibidora 50% (IC₅₀) se determinó a partir de la curva de concentración–respuesta resultante.

Expresión de ICAM–1 inducida por Poli I:C en Células BEAS2B

Se utilizó poli I: C en estos estudios como una imitación de un virus de ARN simple. Se transfectó una mezcla de poli I:C–Oligofectamina (1 µg/mL de poli I:C, ±2% de Oligofectamina, 25 µL; Invivogen Ltd., San Diego, CA, e Invitrogen, Carlsbad, CA, respectivamente) en células BEAS2B (células epiteliales bronquiales humanas, ATCC). Las células se incubaron previamente con concentraciones finales de los compuestos de ensayo durante 2 h y el nivel de expresión de ICAM–1 en la superficie celular se determinó por el método ELISA basado en células. En un punto de tiempo de 18 horas después de la transfección de poli I:C, las células se fijaron con 4% de formaldehído en PBS (100 µL) y luego la peroxidasa endógena se inactivó mediante la adición de solución tampón de lavado (100 µL, 0.05% de Tween en PBS: PBS–Tween) que contenía azida sódica 0.1% y peróxido de hidrógeno 1%. Las células se lavaron con solución tampón de lavado (3 x 200 µL) y luego de bloquear los pocillos con leche

5% en PBS–Tween (100 μ L) durante 1 h, las células se incubaron con anticuerpo anti–ICAM–1 humano (50 μ L; Cell Signaling Technology, Danvers, MA) en BSA PBS 1% hasta la mañana siguiente a 4°C.

Las células se lavaron con PBS–Tween (3 x 200 μ L) y se incubaron con el anticuerpo secundario (100 μ L; IgG anti–conejo conjugado con HRP, Dako Ltd., Glostrup, Dinamarca). Las células luego se incubaron con sustrato (50 μ L) durante 2–20 min, seguido por la adición de solución de parada (50 μ L, 1N H₂SO₄). La señal ICAM–1 se detectó por lectura y la lectura de la absorbancia a 450 nm contra una longitud de onda de referencia de 655 nm utilizando un espectrofotómetro. Las células luego se lavaron con PBS–Tween (3 x 200 μ L) y el número total de células en cada pocillo se determinó por lectura de la absorbancia a 595 nm luego de la tinción con Violeta Cristal (50 μ L de una solución 2% en PBS) y la elución por solución de SDS 1% (100 μ L) en agua destilada. Las lecturas de la OD 450–655 medida se corrigieron para el número de células dividiendo la lectura de la OD595 en cada pocillo. La inhibición de la expresión de ICAM–1 se calculó a cada concentración del compuesto de prueba por comparación con el vehículo de control. La concentración inhibidora 50% (IC₅₀) se determinó a partir de la curva de concentración–respuesta resultante.

Ensayo de Mitosis Celular

Mononucleocitos de sangre periférica (PBMC) de sujetos sanos se separaron de la sangre entera (Quintiles, Londres, Reino Unido) utilizando un gradiente de densidad (Histopaque®–1077, Sigma–Aldrich, Poole, Reino Unido). Los PBMCs (3 millones de células por muestra) se trataron posteriormente con PHA 2% (Sigma–Aldrich, Poole, Reino Unido) durante 48 h, seguido por una exposición de 20 horas a concentraciones variables de los compuestos de ensayo. A las 2 horas antes de la recolección, los PBMC se trataron con demecolcina (0.1 μ g/mL; Invitrogen, Paisley, Reino Unido) para detener las células en metafase. Para observar las células mitóticas, los PBMCs se permeabilizaron y se fijaron mediante la adición de Intraprep (50 μ L; Beckman Coulter, Francia), y se tiñeron con anti–fosfo–histona 3 (0.26 ng/L; #9701;

Cell Signalling, Danvers, MA) y yoduro de propidio (1 mg/mL, Sigma–Aldrich, Poole, Reino Unido) como se describió anteriormente (Muehlbauer P.A. y Schuler M.J., *Mutation Research*, 2003, **537**:117–130). La fluorescencia se observó utilizando un citómetro de flujo ATTUNE (Invitrogen, Paisley, Reino Unido), apertura de puerta para linfocitos. El porcentaje de inhibición de la mitosis se calculó para cada tratamiento con respecto al tratamiento del vehículo (DMSO 0.5%).

Liberación de IL–8 inducida por Rinovirus y Expresión de ICAM–1

Se obtuvo RV16 rinovirus humano de la American Type Culture Collection (Manassas, VA). Se generaron reservas virales se han generado mediante la infección de células HeLa con HRV hasta que 80% de las células fueron citopáticas.

Las células BEAS2B se infectaron con HRV a una MOI de 5 y se incubaron durante 2 h a 33°C con agitación suave para promover la absorción. Las células luego se lavaron con PBS, se agregó medio fresco y las células se incubaron durante un período adicional de 72 h. Se recolectó el sobrenadante para el ensayo de las concentraciones de IL–8 utilizando un kit de desarrollo de DuoSet ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN).

El nivel de la expresión ICAM–1 en la superficie celular se determinó por el método ELISA basado en células. A las 72 horas luego de la infección, las células se fijaron con formaldehído 4% en PBS. Luego de la desactivación de la peroxidasa endógena mediante la adición de azida sódica 0.1% y peróxido de hidrógeno 1%, los pocillos se lavaron con solución tampón de lavado (Tween 0.05% en PBS: PBS–Tween). Luego de bloquear el pocillo con leche 5% en PBS–Tween durante 1 h, las células se incubaron con anticuerpo anti–ICAM–1 humano en BSA 5% PBS–Tween (1:500) hasta la mañana siguiente. Los pocillos se lavaron con PBS–Tween y se incubaron con el anticuerpo secundario (IgG anti–conejo conjugado con HRP, Dako Ltd.). La señal ICAM–1 se detectó mediante la adición de sustrato y la lectura a 450 nm con una longitud de onda de referencia de 655 nm usando un espectrofotómetro. Los pocillos luego se lavaron con PBS–Tween y el número total de células en cada pocillo

se determinó por lectura de la absorbancia a 595 nm luego de la tinción con Violeta Cristal y la elución por solución de SDS 1%. Las lecturas de la OD_{450–655} medida se corrigieron para el número de células dividiendo con la lectura de la OD₅₉₅ en cada pocillo. Los compuestos se agregaron 2 h antes de la infección por HRV y 2 h luego de la infección cuando no se eliminó HRV no infectado.

Evaluación de CPE inducida por HRV16 en células MRC5

Se infectaron células MRC–5 con HRV16 a una MOI de 1 en DMEM que contenía FCS 5% y 1.5 mM de MgCl₂, seguido por incubación durante 1 h a 33°C para promover la adsorción. Los sobrenadantes se aspiraron y, luego se agregó medio fresco seguido por la incubación durante 4 días. Según lo apropiado, las células se incubaron previamente con compuesto o DMSO durante 2 h, y los compuestos y DMSO se agregaron nuevamente luego de la eliminación del virus.

Los sobrenadantes se aspiraron y se incubaron con solución de azul de metileno (100 µL, formaldehído 2%, metanol 10% y Azul de Metileno 0.175%) durante 2 h a TA. Luego del lavado, SDS 1% en agua destilada (100 µL) se agregó a cada pocillo, y las placas se agitaron suavemente durante 1–2 h antes de la lectura de la absorbancia a 660 nm. Se calculó el porcentaje de inhibición de cada pocillo. Se calculó el valor IC₅₀ a partir de la curva de concentración–respuesta generada por las diluciones en serie de los compuestos de prueba.

Carga viral de RSV in vitro en células epiteliales bronquiales.

Células epiteliales bronquiales humanas normales (NHBE) cultivadas en placas de 96 pocillos se infectaron con RSV A2 (Cepa A2, HPA, Salisbury, Reino Unido) a una MOI de 0.001 en el Medio LHC8:RPMI–1640 (50:50) que contenía 15 mM de cloruro de magnesio y se incubaron durante 1 h a 37°C para la adsorción. Las células luego se lavaron con PBS (3 x 200 µL), se agregó medio fresco (200 µL) y la incubación continuó durante 4 días. Según lo apropiado, las células se incubaron previamente con el compuesto o DMSO durante 2 h, y luego se agregaron nuevamente

luego de la eliminación del virus.

Las células se fijaron con formaldehído 4% en solución de PBS (50 μ L) durante 20 min, se lavaron con solución tampón de lavado (3 x 200 μ L; la PBS incluyó BSA 0.5% y Tween-20 0.05%) y se incubaron con solución de bloqueo (leche condensada 5% en PBS) durante 1 hora. Las células luego se lavaron con solución tampón de lavado (3 x 200 μ L) y se incubaron durante 1 h a TA con anticuerpo de la proteína de fusión F anti-RSV (2F7) (40 μ L; monoclonal de ratón, lote 798760, Cat. N° ab43812, Abcam) en BSA 5% en PBS-Tween). Luego del lavado, las células se incubaron con una solución de anticuerpo secundario conjugado con HRP (50) μ L en BSA 5% en PBS-Tween (lote 00053170, Cat. N° P0447, Dako) y, luego sustrato de TMB (50 μ L; se agregó el paquete de reactivos del sustrato, lote 269472, Cat. N° DY999, R&D Systems, Inc.). Esta reacción se detuvo mediante la adición de 2N H₂SO₄ (50 μ L) y la señal resultante se determinó por colorimetría (OD: 450 nm con una longitud de onda de referencia de 655 nm) en un lector de microplacas (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific).

Las células luego se lavaron y una solución de cristal violeta 2.5% (50 μ L; lote 8656, Cat. N° PL7000, Pro-Lab Diagnostics) se aplicó durante 30 min. Luego del lavado con solución tampón de lavado, SDS 1% en agua destilada (100 μ L) se agregó a cada pocillo, y las placas se agitaron suavemente en un agitador durante 1 h antes de la lectura de la absorbancia a 595 nm. Las lecturas de la OD₄₅₀₋₆₅₅ medida se corrigieron para el número de células dividiendo la OD₄₅₀₋₆₅₅ por las lecturas de la OD₅₉₅. Se calculó el porcentaje de inhibición para cada pocillo y el valor IC₅₀ se calculó a partir de la curva de concentración-respuesta generada por las diluciones en serie del compuesto.

El Efecto de los Compuestos de Ensayo sobre la Viabilidad Celular:

Ensayo de MTT

Las células U937 diferenciadas se incubaron previamente con cada compuesto de prueba (concentración final 1 μ g/mL o 10 μ g/mL en 200 μ L del medio

indicado a continuación) bajo dos protocolos: el primero durante 4 h en el medio FCS RPMI1640 5% y el segundo en el medio FCS RPMI1640 10% durante 24 horas. El sobrenadante se reemplazó con un medio nuevo (200 μ L) y también se agregó solución de carga MTT (10 μ L, 5 mg/mL) a cada pocillo. Luego de la incubación durante 1 h se eliminó el medio, se agregó DMSO (200 μ L) a cada pocillo y las placas se agitaron suavemente durante 1 h antes de la lectura de la absorbancia a 550 nm. El porcentaje de pérdida de viabilidad celular se calculó para cada pocillo con respecto al tratamiento del vehículo (DMSO 0.5%). En consecuencia, un aumento aparente en la viabilidad celular para el tratamiento del fármaco relativo al vehículo se tabula como un porcentaje negativo.

Producción de citocinas en macrófagos de esputo de COPD.

Los pacientes con COPD inhalaban una solución nebulizada de solución salina hipertónica 3% (p/v) utilizando un nebulizador ultrasónico (Devillebiss, Carthage, MO) con respiración normal durante 5 min. Este procedimiento se repitió un máximo de tres veces hasta que se obtuvo esputo suficiente. Las muestras de esputo se homogenizaron y mezclaron vigorosamente utilizando un mezclador de vórtice 0.02% v/v de solución de ditioneitol (DTT). Las muestras se suspendieron nuevamente en PBS (40 mL) seguido por centrifugación a 1500 rpm a 4°C durante 10 min para obtener pellas celulares de esputo. Las pellas se lavaron dos veces con PBS (40 mL). Las células de esputo luego se suspendieron nuevamente en medio libre de suero para macrófagos (macrófagos del SFM, Life Technologies, Paisley, Reino Unido; para lograr 2×10^6 /pocillo en una placa de 24 pocillos) que contenía 20 U/mL de penicilina, 0.02 mg/mL de estreptomicina y 5 μ g/mL de anfotericina B y se sembraron en placa de 96 pocillos de alta unión, seguido por incubación durante 2 h a 37°C y a 5% de CO₂ para permitir que los macrófagos se unan a la parte inferior de la placa. Las células en la placa se lavaron con macrófagos frescos de SFM (200 μ L/pocillo) para eliminar los neutrófilos y otras células contaminadas. Las células adherentes (principalmente los macrófagos de esputo) en la placa se utiliza para un análisis adicional. La inducción del

esputo y el aislamiento se llevaron a cabo en Quintiles Drug Research Unit en el Guys Hospital y la aprobación ética y el consentimiento informado escrito fueron obtenidos por Quintiles.

Según lo apropiado, 1 μL de una solución que contenía cualquiera del compuesto de prueba o el artículo de referencia en las concentraciones indicadas o alternativamente 1 μL de DMSO como el vehículo de control se agregó a cada pocillo (200 μL en el medio) y las células se incubaron durante 2 h. Las células se estimularon con una solución de LPS (50 μL , concentración final: 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$) y se incubaron durante 4 h a 37°C y CO 5%₂. El sobrenadante luego se recolectó y se mantuvo a –80°C. Se utilizaron kits de Luminex Millipore para medir los cuatro analitos. Después de descongelar el sobrenadante, las perlas magnéticas de anticuerpos se multiplexaron e incubaron en una placa de 96 pocillos con solución de fondo estándar, o el volumen apropiado de muestra hasta la mañana siguiente con agitación a 4°C. Luego de lavar dos veces con 200 μL de solución tampón de lavado proporcionada por el kit por pocillo, utilizando una lavadora de placa magnética, las perlas se incubaron durante 1 h a TA con 25 μL de la solución de anticuerpo conjugado con biotina proporcionado por el kit con agitación. Se agregó solución de estreptavidina durante 30 min con agitación a TA. Luego de lavar con 200 μL de solución tampón de lavado por pocillo, las perlas se suspendieron nuevamente en el fluido envolvente (150 μL) y se analizaron inmediatamente. El nivel de cada analito en el sobrenadante se calculó utilizando el software Xcel Fit con una ecuación de 4 o 5 parámetros utilizando cada curva estándar. Las inhibiciones de cada producción de citocinas se calcularon a cada concentración por comparación con el vehículo de control. Los valores IC₅₀ se determinaron a partir de las curvas de concentración–inhibición utilizando XL–Fit (idbs, Guildford, Reino Unido)

Producción de citocinas en células epiteliales bronquiales primarias de COPD

Las células epiteliales primarias de las vías respiratorias obtenidas de

pacientes con COPD se adquirieron de Asterand (Royston, Reino Unido), y se mantuvieron en medios de crecimiento celular epitelial bronquial que se preparó mezclando juntos LHC8 (Invitrogen) (500 mL), con LHC9 (Invitrogen) (500 mL) y 3 μ L de solución de ácido retinoico (5 mg/mL en DMSO puro. El medio se eliminó por aspiración y se agregó BEGM fresco (200 μ L) a cada pocillo. Según lo apropiado se agregó 1 μ L de una solución del compuesto de prueba a las concentraciones indicadas o 1 μ L de DMSO como vehículo de control y las células se incubaron durante 2 horas. Las células se estimularon con $\text{TNF}\alpha$ (50 μ L; concentración final 50 ng/mL) y luego se incubaron durante 4 horas a 37°C y 5% de CO_2 . El sobrenadante luego se recolectó y se mantuvo a -20°C.

Los niveles de IL-6 e IL-8 se determinaron por el método ELISA utilizando los kits de ELISA Duoset® IL-6 e IL-8 Humana de R&D Systems. La inhibición de la producción de IL-6 e IL-8 se calculó a cada concentración por comparación con el vehículo de control. Las concentraciones inhibidoras 50% (IC_{50}) se determinaron a partir de las curvas de concentración–respuesta utilizando XL-Fit (idbs, Guildford, Reino Unido).

Barrido In Vivo: Farmacodinamia y Actividad Antiinflamatoria

Acumulación de neutrófilos inducida por LPS en ratones

A ratones Balb/c que no estaban en ayunas se les administró por vía intratraqueal vehículo, o la sustancia de ensayo en los tiempos indicados (dentro del intervalo de 2–8 h) antes de la estimulación de la respuesta inflamatoria por la aplicación de una exposición a LPS. A $T = 0$, los ratones se colocaron en una cámara de exposición y se expusieron a LPS (7.0 mL, 0.5 mg/mL de solución en PBS) durante 30 min). Luego de un período adicional de 8 horas se anestesiaron los animales, sus tráqueas se canularon y se extrajo el fluido de lavado broncoalveolar (BALF, por sus siglas en inglés) mediante infusión y luego se extrajo de sus pulmones 1.0 mL de PBS *por medio del* catéter traqueal. Los recuentos totales y diferenciales de glóbulos

blancos en las muestras de BALF se midieron utilizando un hemocitómetro Neubaur. Se prepararon extendidos de citospina de las muestras de BALF por centrifugación a 200 rpm durante 5 min a TA y se tiñeron utilizando un sistema de tinción DiffQuik (Dade Behring). Las células se contaron mediante aceite de inmersión para microscopía. Los datos para el número de neutrófilos en BAL se muestran como la media $\pm$ S.E.M (error estándar de la media). El porcentaje de inhibición de la acumulación de neutrófilos se calculó para cada tratamiento en relación con el tratamiento con vehículo.

Modelo de Humo de Cigarrillo

Ratones A/J (machos de 5 semanas de edad) se expusieron al humo de cigarrillo (4% de humo de cigarrillo, diluido con aire) durante 30 min/día durante 11 días utilizando un Sistema de Experimento de Inhalación de Humo de Tabaco para animales pequeños (Modelo SIS-CS; Sibata Scientific Technology, Tokio, Japón). Las sustancias de ensayo se administraron por vía intranasal (35 μ L de solución en 50% de DMSO/PBS) una vez al día durante 3 días posteriores a la exposición final de humo de cigarrillo. A las 12 h posteriores a la última dosificación se anestesió cada uno de los animales, se canuló la traquea y se recolectó el fluido de lavado broncoalveolar (BALF). Las cantidades de macrófagos alveolares y neutrófilos se determinaron por análisis FACS (EPICS[®] ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, EE.UU.) utilizando anticuerpo anti-ratón MOMA2 (macrófago) o anticuerpo anti-ratón-7/4 (neutrófilo). El BALF se centrifugó y se recolectó el sobrenadante. El nivel de quimioatrayente de queratinocitos (KC; CXCL1) en BALF se cuantificó utilizando un kit Quentikine[®] KC ELISA para ratón (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, EE.UU.).

EJEMPLO 1

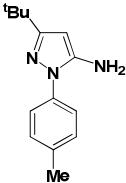
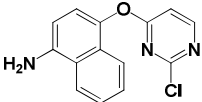
Preparación del compuesto (I)

Los siguientes compuestos intermedios utilizados para preparar el Compuesto (I) de la invención se han descrito anteriormente y se prepararon utilizando

los procedimientos contenidos en las referencias citadas a continuación (Cuadro 3).

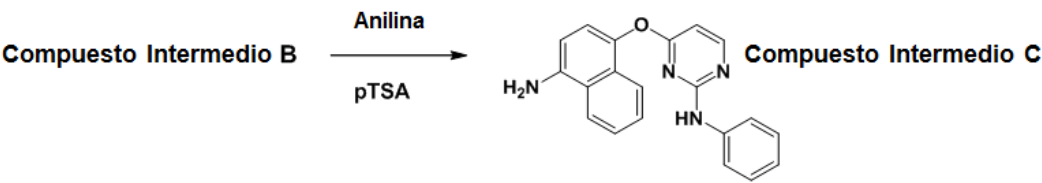
CUADRO 3

Compuestos Intermedios Descritos Anteriormente

Compuesto Intermedio	Estructura	Nombre, Datos de LCMS y Referencia
A		3- <i>tert</i> -butil-1- <i>p</i> -tolil-1 <i>H</i> -pirazol-5-amina. R ^t 2.46 min (Método 1 básico); m/z 230 (M+H) ⁺ , (ES ⁺). Cirillo, P. F. <i>et al.</i> , WO 2000/43384, 27 de julio de 2000.
B		4-((2-cloropirimidin-4-il)oxi)naftalen-1-amina. R ^t 1.80 min (Método 2); m/z 272/274 (M+H) ⁺ , (ES ⁺). Cirillo, P. F. <i>et al.</i> , WO 2002/92576, 21 de noviembre de 2000.

COMPUESTO INTERMEDIO C

4-((4-Aminonaftalen-1-il)oxi)-*N*-fenilpirimidin-2-amina

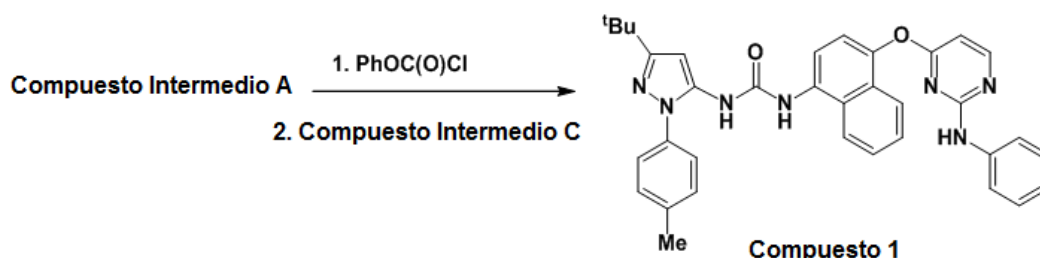


A una solución purgada con nitrógeno de la mezcla del Compuesto Intermedio B (50.0 g, 184 mmoles) y anilina (42.0 mL, 460 mmoles) en THF (200 mL) se agregó *p*TSA (17.5 g, 92.0 mmoles) en una sola porción. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 1.5 horas en cuyo tiempo se formó un precipitado. La mezcla se enfrió a TA y se diluyó con THF (200 mL). El precipitado se recolectó por filtración, se lavó con THF (2 x 100 mL) y luego se suspendió en una mezcla heterogénea de DCM (600 mL) y NaOH ac. (2M, 200 mL) y se agitó vigorosamente durante 1 h en cuyo tiempo los sólidos suspendidos se disolvieron. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (200 mL). Los extractos de DCM se combinaron, se secaron y se evaporaron al vacío. El residuo se trituró con éter (150 mL) y el sólido resultante se lavó con éter (2 x 50 mL) para proporcionar el Compuesto Intermedio C en forma de un sólido de color blancuzco (26 g, 43%); R^t 1.95 min (Método 2): m/z 329

(M+H)⁺(ES⁺).

COMPUESTO (I)

1-(3-(*terc*-Butil)-1-(*p*-tolil)-1*H*-pirazol-5-il)-3-(4-((2-(*fenilamino*) pirimidin-4-il)oxi)naftalen-1-il)urea



Una mezcla heterogénea de una solución de Na₂CO₃ (3,84 g, 36 mmoles) en agua (42 mL) y el Compuesto Intermedio A (10.5 g, 45.7 mmoles) en acetato de isopropilo (130 mL, 1.082 moles) se agitó vigorosamente a TA durante 5 min y luego se trató con carbonoclorhidrato de fenilo (5.77 mL, 45.7 mmoles). La agitación de la mezcla continuó durante 4 h y posteriormente las capas se separaron. La fase orgánica se agregó a una solución del Compuesto Intermedio C (10.0 g, 30.5 mmoles) y trietilamina (423 µL, 3.05 mmoles) en acetato de isopropilo (60 mL, 511 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a 48°C durante 1 h, luego se diluyó con acetato de isopropilo (190 mL) y se enfrió a TA durante un período adicional de 18 h, en cuyo tiempo se formó un precipitado. El precipitado se aisló por filtración, se lavó con acetato de isopropilo y luego se secó al vacío a 40°C para proporcionar el compuesto del título, Compuesto (1) en forma de un sólido de color blanco (base libre anhidro, forma polimórfica A) (16.5 g, 92%); R^t 2.74 min (Método 2): m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.30 (9H, s), 2.41 (3H, s), 6.43 (1H, s), 6.58 (1H, d), 6.78 (1H, t), 6.97 (2H, t), 7.28 (2H, m), 7.39 (2H, d), 7.40 (1H, d), 7.49 (2H, d), 7.56 (1H, m), 7.63 (1H, m), 7.82 (1H, dd), 7.95 (1H, d), 8.10 (1H, d), 8.40 (1H, d), 8.77 (1H, s), 9.16 (1H, s ancho), 9.50 (1H, s ancho).

EJEMPLO 2

Síntesis de los Resultados del Barrido *in Vitro* e *In Vivo*

El perfil *in vitro* del Compuesto (I) descrito en la presente, el cual se determina utilizando los protocolos descritos anteriormente, se presenta a continuación (Cuadros 4A–F) en comparación con un Compuesto de Referencia con estructura relacionada que es *N*–(4–(4–(3–(3–*terc*–butil–1–*p*–tolil–1H–pirazol–5–il)ureido)naftalen–1–iloxi)piridin–2–il)–2–metoxiacetamida, que ha sido descrito anteriormente como un agente antiinflamatorio potente con actividad antiviral (Ito, K. *et al.*, WO 2010/112936, PCT/GB2010/050575, 7 de octubre de 2010 e Ito, K. *et al.*, WO 2010/067130, PCT/GB2009/051702, 17 de junio de 2010).

El compuesto de la presente invención demuestra un perfil inhibidor muy similar al Compuesto de Referencia en el intervalo de los ensayos de enzimas de cinasas con la notable excepción de la actividad inhibidora del Compuesto (I) frente a la enzima GSK3α, que es mucho más débil que el Compuesto de Referencia (Cuadro 4A).

CUADRO 4A

Perfil de las Enzimas p38 MAPK, c–Src, Syk y GSK3 α del Compuesto (I)

Compuesto de prueba	Valores IC ₅₀ de la Inhibición de Enzimas (nM)				
	p38 MAPKα	p38 MAPKγ	c–Src	Syk	GSK3α
Compuesto (I)	60	3739	22	334	>17000
Compuesto de Referencia	12	344	5	42	45

El perfil de unión de cinasas del Compuesto (I) de la presente invención también se comparó con el Compuesto de Referencia frente a p38 MAPK, HCK, CSRC, Syk, y GSK3α/β. El Compuesto (I) exhibió un fenotipo muy diferente que demostró una inhibición profunda de la unión contras las cinasas p38MAPK, HCK, cSrc y Syk, sin un efecto significativo contra GSK3α (Cuadro 4B).

CUADRO 4B

Comparación del Perfil de Unión de Enzimas del Compuesto (I) con el Compuesto de Referencia

Compuesto de prueba	Valor Kd para la Unión de Cinasas (nM)						
	p38 MAPK α	p38 MAPK γ	HCK	cSrc	Syk	GSK3 α	GSK3 β
Compuesto (I)	20	43	8	10	14	20000	1200
Compuesto de Referencia	1	5	5	4	9	180	24

El compuesto de la presente invención demuestra un perfil similar al del Compuesto de Referencia en ensayos celulares que revelan propiedades antiinflamatorias contra la liberación mediada por endotoxinas de ambas TNF–alfa e IL–8 (Cuadro 4C). Los perfiles de los compuestos son también similares en los sistemas celulares midiendo sus efectos sobre la replicación del virus respiratorio (expresión de ICAM1 y CPE inducida por HRV y expresión estimulada por RSV de la proteína F), como así también la inflamación inducida por virus (liberación evocada por HRV de IL–8; Cuadro 4D).

CUADRO 4C

Inhibición de la Liberación de TNF α e IL–8 inducida por LPS y de la Expresión de ICAM Inducida por PolyIC para el Compuesto (I)

Compuesto de prueba	Liberación Inducida por LPS (nM)			PolyIC/ ICAM1 (nM)
	TNF α		IL–8	
	IC ₅₀ (THP1)	REC ₅₀ (dU937)	IC ₅₀ (dU937)	IC ₅₀ (BEAS2B)
Compuesto (I)	3.4	2.3	2.2	10.2
Compuesto de Referencia	13	0.13	1.3	2.1

CUADRO 4D

El efecto del Compuesto (I) sobre la Propagación de HRV-16 (CPE) y la Inflamación (Expresión de la liberación de ICAM-1 e IL-8) y sobre la Propagación de RSV (Expresión de la Proteína F)

Sustancia de Ensayo	Valores IC ₅₀ (nM) para la Liberación/Expresión Estimulada por HRV			Valores IC ₅₀ (nM) para la Expresión Estimulada por RSV
	IL-8 (BEAS2B)	ICAM1 (BEAS2B)	CPE (MRC5)	Proteína F (HBEC)
Compuesto (I)	0.036	0.023	17.1	15.4
Compuesto de Referencia	0.065	0.37	4.7	22.0

El compuesto de la presente invención demostró una mayor eficacia en la producción de citocinas pro-inflamatorias en el macrófago del esputo y en células epiteliales bronquiales obtenidas de pacientes con COPD, que eran en gran medida insensibles al propionato de fluticasona, un corticosteroide. (Cuadro 4E).

CUADRO 4E

Efecto del Compuesto (I) y Propionato de Fluticasona sobre la liberación de citocinas pro-inflamatorias en macrófagos del esputo y células epiteliales bronquiales de pacientes con COPD

Tipo de Células	Citoquina	Valores IC ₅₀ (nM) y/o E max (% entre paréntesis) ¹ para la Sustancia de Prueba Indicada	
		Compuesto (I)	Propionato de Fluticasona
Macrófago del Esputo	IL-6	43 (79)	(26)
	IL-8	68 (64)	(19)
	TNFα	17 (86)	(18)
	MIP1α	7.5 (89)	(20)
Célula Epitelial Bronquial	IL-6	1.7 (100)	(38)
	IL-8	0.85 (100)	(17)

1. Los valores E-max (inhibición máxima) se calcularon como el % de inhibición obtenido en 0.1 µg/mL

Sin embargo, ventajosamente, el Compuesto (I) muestra una actividad marcadamente inferior en sistemas de ensayo que miden su impacto sobre la viabilidad celular y la división celular (mitosis), indicando que es probable que el compuesto posea un índice terapéutico superior sobre el Compuesto de Referencia (Cuadro 4F).

CUADRO 4F

Efecto del Compuesto (I) sobre la Viabilidad Celular y la División Celular

Sustancia de Prueba	Ensayo de MTT ¹		Ensayo de Mitosis
	Viabilidad celular en el punto de tiempo indicado en Células d-U937		% de inhibición en 5 µg/mL en Células PBMC
	4 h	24 h	
Compuesto (I)	-ve	-ve	31.3
Compuesto de Referencia	-ve	+ve	87.8

1. Barrido de Viabilidad Celular: -ve y +ve indican que el valor está por debajo y por encima, respectivamente, el efecto umbral no significativo se define como 30% de inhibición en 1 µg/mL en el punto de tiempo indicado.

Se descubrió que el tratamiento de ratones con el Compuesto (I) produjo una inhibición dependiente de la dosis sobre la acumulación de neutrófilos inducida por LPS y un experimento de evolución temporal reveló que la sustancia del fármaco tuvo una duración de acción prolongada (Cuadro 5).

CUADRO 5

Los Efectos del Tratamiento con el Compuesto (I) sobre Neutrofilia en Vías Respiratorias Inducida por LPS en Ratones

Compuesto (I) (mg/mL)	Cantidad de neutrófilos en BALF (x10 ⁵ /mL) al tiempo indicado para la dosis previa (% de inhibición) ¹		
	2 h	8 h	12 h
Vehículo	18.9 ± 2.5	–	–
0.05	15.6 ± 2.1 (18)	–	–
0.2	9.8 ± 1.6 (48)	–	–
1.0	4.4 ± 0.89 (77)	9.9 ± 1.8 (48)	18.3 ± 2.3 (4)

1. N = 8 por grupo

Se investigó el resultado del tratamiento con el Compuesto (I) en la acumulación de macrófagos y neutrófilos en BALF en el modelo de humo de cigarrillo en ratones (Cuadro 6A). Se informó que el modelo de humo de cigarrillo utilizado para este estudio era un sistema refractario a corticosteroides, (Medicherla S. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2008, 324(3):921–9.) y se confirmó que el propionato de fluticasona no inhibió ninguna de la acumulación de neutrófilos o macrófagos en las vías respiratorias en 1.75 µg/ratón (35 µl, dos veces al día, i.n.), la misma dosis que produjo una inhibición >80% de acumulación de neutrófilos inducida por LPS.

Se descubrió que el tratamiento de ratones con el Compuesto (I) produjo una inhibición dependiente de la dosis tanto en la acumulación de macrófagos como de neutrófilos en BALF inducida por el humo de cigarrillos.

CUADRO 6A

Los Efectos del Tratamiento con el Compuesto (I) sobre el Humo de Tabaco en Ratones

Tratamiento Compuesto (I) (µg/mL)	Cantidad de células en BALF x 10 ⁴ /mL (% de inhibición)	
	Macrófagos	Neutrófilos
Vehículo + Aire	4.3 ± 0.45	2.6 ± 0.21
Vehículo + Humo de Tabaco	14.4 ± 0.33	13.7 ± 0.31
0.32	13.3 ± 0.20 (11)	12.4 ± 0.32 (12)
1.6	11.6 ± 0.42 (28)	10.5 ± 0.06 (29)
8.0	10.1 ± 0.42 (43)	9.1 ± 0.28 (41)
40	7.9 ± 0.20 (64)	7.9 ± 0.34 (52)

Los datos de las cantidades de células se muestran como la media ± SEM, N=5

El tratamiento de ratones con el Compuesto (I) también inhibió la producción de CXCL1 (KC) inducida por el humo de cigarrillo en BALF de una manera dependiente de la dosis (Cuadro 6B).

CUADRO 6B

Los Efectos del Tratamiento con el Compuesto (I) sobre la Liberación de CXCL1 (KC) en BALF en el Humo de Tabaco en Ratones

Tratamiento Compuesto (I) (µg/mL)	CXCL1 en BALF pg/mL (% de inhibición)
Vehículo + Aire	8.2 ± 0.30
Vehículo + Humo de Tabaco	13.6 ± 1.69
0.32	13.6 ± 1.69 (0)
1.6	12.2 ± 0.96 (26)
8.0	11.4 ± 0.15 (41)
40	9.5 ± 0.84 (76)

Los datos del nivel de CXCL se muestran como la media ± SEM, N=5

En síntesis, estos resultados sugieren que el Compuesto (I) tiene propiedades antiinflamatorias similares al Compuesto de Referencia divulgado anteriormente y, ventajosamente, se asocia con un índice terapéutico superior.

EJEMPLO 3

Preparación del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B

El Compuesto (I) (398 g, en la forma polimórfica A) se absorbió en acetona (3.98 L) y la solución se calentó hasta 50°C. Luego se agregaron NORIT A SUPRA (19.9 g, un carbón activado) y tierra de diatomeas, flujo–calcinada (3.98 g; un agente de filtro) y la mezcla se calentó hasta reflujo (56°C) durante 15 min. La mezcla se filtró y el sólido resultante se lavó con acetona (100 mL). El filtrado combinado y la acetona de lavado se calentaron hasta reflujo (56°C), y se extrajo 900 mL de solvente mediante destilación bajo presión atmosférica a 56°C. La mezcla se enfrió hasta 50°C y luego se agregó agua (398 mL) durante un periodo de 1 h, mientras que la temperatura se mantuvo a 50°C. Luego de un período adicional de 30 min a 50°C la mezcla heterogénea se enfrió hasta 20°C durante 6 h y luego se agitó a 20°C durante 10 horas. El producto resultante se filtró y la torta se lavó con acetona (318 mL). El producto se secó al vacío a 45°C durante 20 h para producir el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B (240.9 g, rendimiento del 60.5%).

El método anterior puede estar opcionalmente adaptado para facilitar la cristalización con siembra.

EJEMPLO 3A

Preparación del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B que contenía solvente residual reducido

Opcionalmente, el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, preparada de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente (Ejemplo 3) o un método similar, se puede suspender nuevamente a partir de agua con el fin de reducir el solvente residual de la siguiente manera:

El Compuesto (I) como base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B (230 g, preparado de acuerdo con el Ejemplo 3) se suspendió en agua desionizada (2.30 L) y se agitó a 20°C durante 4 h. La mezcla se filtró y el producto se lavó con agua desionizada (2 x 115 mL) y luego se secó a 45°C al vacío para producir el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B que contiene solvente residual reducido (227 g, 98.7%).

EJEMPLO 4

Micronización del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B

La forma polimórfica micronizada cristalina B del Compuesto (I) como la base libre anhidra se preparó utilizando un dispositivo de micronización con molinos de chorro (1.5 bars utilizando un alimentador manual con un inyector de presión de 1.5 bars) (fabricado por Hosokawa Alpine). La distribución del tamaño de partícula se midió utilizando difracción láser (instrumento Malvern Mastersizer 2000S). Las distribuciones del tamaño de partícula pueden representarse utilizando valores D_{10} , D_{50} y D_{90} . El valor medio D_{50} de las distribuciones del tamaño de partícula se define como el tamaño de partícula en micras que divide la distribución por la mitad. La medición derivada de la difracción láser se describe más exactamente como una distribución de volumen, y en consecuencia el valor D_{50} obtenido utilizando este procedimiento se refiere más significativamente a un valor Dv_{50} (medio para una distribución de volumen). Como se emplea en la presente, los valores Dv se refieren a distribuciones del tamaño de partícula medidas mediante difracción láser. De manera similar, se entiende que los

valores D_{10} y D_{90} , utilizados en el contexto de la difracción láser, significan valores Dv_{10} y Dv_{90} y se refieren al tamaño de partícula mediante el cual el 10% de la distribución se encuentra por debajo del valor D_{10} , y 90% de la distribución se encuentra por debajo del valor D_{90} , respectivamente. La forma polimórfica micronizada cristalina B del Compuesto (I) como la base libre anhidra tuvo la siguiente distribución del tamaño de partícula: D_{10} de 0.850 μm ; D_{50} de 1.941 μm y D_{90} de 4.563 μm .

EJEMPLO 5

Análisis XRPD del Compuesto (I) como la base libre anhidra en las formas polimórficas sólidas cristalinas A y B

El análisis XRPD del Compuesto (I) como la base libre anhidra en las formas polimórficas sólidas cristalinas A y B (la forma polimórfica B se micronizó siguiendo el procedimiento del Ejemplo 4) se llevó a cabo utilizando el método descrito en los Procedimientos Generales. Los patrones de difracción resultantes se muestran en las Figuras 1 y 2, respectivamente. Ambos patrones de XRPD mostraron picos de difracción sin la presencia de un halo, lo que indica que ambos materiales son cristalinos. Los picos y sus intensidades se enumeran a continuación (Cuadro 7A y Cuadro 7B).

CUADRO 7A

Picos característicos de XRPD y sus intensidades para el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma sólida cristalina A

Picos de XRPD	
Valores 2- Theta ¹	Intensidades
7.8	19.7
8.7	20.8
10.3	22.6
11.2	23.1
12.4	24.6
15.2	25.5
16.2	26.7
17.5	27.4

1. Los valores son ± 0.2 grado

CUADRO 7B

Picos característicos de XRPD para el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma sólida cristalina B, luego de la micronización

Picos de XRPD	
Valores 2- Theta ¹	Intensidades
3.9	16.7
6.1	18.3
7.7	18.7
8.6	19.9
10.9	20.9
11.8	22.0
12.7	22.6
14.3	25.2
15.9	28.9

1. Los valores son ± 0.2 grados

EJEMPLO 6

Determinación del punto de fusión del Compuesto (I) como la base libre anhidra en las formas polimórficas sólidas cristalinas A y B

Los puntos de fusión del Compuesto (I) como la base libre anhidra en las formas polimórficas sólidas cristalinas A y B (esta última luego de la micronización) se obtuvieron utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC) tal como se describe en los Procedimientos Generales. La forma polimórfica A se fundió a 191.6°C y la forma polimórfica B se fundió a 214.0°C. A partir de los datos de DSC se calculó que la forma B tenía un mayor calor de fusión que la forma A. Debido a que la forma B también tiene un punto de fusión más alto que la forma A, esto indica que las formas polimórficas A y B tienen relación monotrópica, lo que significa que la forma polimórfica B de fusión más alta será más estable que la forma polimórfica A de fusión más baja, a todas las temperaturas. Como tal, se puede esperar que la forma polimórfica B sea termodinámicamente más estable que la forma polimórfica A.

EJEMPLO 7

Análisis térmico del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización

El análisis térmico del Compuesto (I) como base libre anhidra en la forma polimórfica cristalina B (micronizada) se llevó a cabo mediante análisis de TGA, DVS, XRPD, espectroscopia IR y DSC como se describe en los Procedimientos Generales. Según lo apropiado, una muestra a temperatura ambiente y humedad relativa (muestra de referencia/"0 días") se comparó con las muestras almacenadas a diferentes temperaturas y humedades relativas (muestras comparativas).

Análisis Termogravimétrico

La muestra de referencia ($t = 0$) y las muestras comparativas que fueron expuestas antes del análisis a distintas condiciones de almacenamiento, se calentaron a un índice de $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ desde TA hasta 300°C . La curva TGA de la muestra de referencia ($t = 0$) se ilustra en la Figura 3 y los resultados de todas las muestras se resumen a continuación (Cuadro 7). Como puede verse en la Figura 3 se observó una pérdida de peso de 0.6% en el intervalo de temperatura desde TA a 180°C , que se debió a la evaporación del solvente. La pérdida de peso que ocurrió sobre 180°C se debió a la evaporación y la descomposición del producto. Comparando este perfil de pérdida de peso con los de las muestras comparativas en el Cuadro 7, no se observaron diferencias significativas.

Absorción Dinámica de Vapor

El gráfico de la isoterma DVS de la muestra micronizada de referencia se ilustra en la Figura 4 y el cambio de DVS en el gráfico de masa para la muestra micronizada de referencia se ilustra en la Figura 5. Durante la etapa inicial de secado, no se registró pérdida de peso y el producto no mostró comportamiento higroscópico. El producto adsorbió hasta 0.4% de humedad en función de la humedad atmosférica. Se descubrió que el producto se secaba completamente y que se mantenía en el mismo estado sólido cristalino (forma B) durante la prueba, como se evidencia por el espectro IR y el patrón de XRPD que son sustancialmente los mismos antes y después del análisis DVS.

Análisis de XRPD y Espectroscopía IR

El patrón de difracción XRPD de la muestra de referencia ($t = 0$) se ilustra en la Figura 2 y la traza IR se ilustra en la Figura 6. El patrón de difracción y la traza IR se compararon con aquellos de las muestras comparativas (expuestas a distintas condiciones de almacenamiento) y los resultados se resumen en el Cuadro 7. Los patrones de difracción y las trazas IR fueron idénticos para todas las muestras.

Calorimetría Diferencial de Barrido

La muestra de referencia (t = 0) y las muestras comparativas, expuestas anteriormente a distintas condiciones de almacenamiento, se calentaron a un índice de 10°C/min desde 25°C a 300°C. La curva de DSC de la muestra de referencia se ilustra en la Figura 3 y los resultados de todas las muestras se resumen a continuación (Cuadro 8). De acuerdo con la Figura 7 es evidente que la muestra de referencia se fundió con descomposición a 214.0°C.

CUADRO 8

Análisis térmico del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización

Condiciones de Almacenamiento	TGA		XRD ^{1,2}	IR	DSC ³	Aspecto
	<100°C	<180°C				
T = cero		0.6	Crist. Ref	Crist. Ref	214	blancuzco
1 semana/ 80°C	NE	NE	~Ref	~Ref	NE	blancuzco
1 semana / 70°C / 75% HR	NE	NE	~Ref	~Ref	NE	blancuzco
4 semanas / TA / <5 % HR	0.8	0.5	~Ref	~Ref	214	blancuzco
4 semanas / TA / 56% HR	0.5	0.4	~Ref	~Ref	214	blancuzco
4 semanas / TA / 75 % HR	0.9	0.5	~Ref	~Ref	214	blancuzco
4 semanas/ 50°C	1.3	0.5	~Ref	~Ref	214	blancuzco
4 semanas / 40°C / 75% HR	0.8	0.3	~Ref	~Ref	214	blancuzco

1. Crist.: Cristalino; 2. ~ Ref: patrón idéntico a la muestra de referencia, 3.max (°C); NE: No evaluado en este ensayo

En síntesis, es evidente que el Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B tiene buena estabilidad física.

EJEMPLO 8

Análisis por HPLC del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización

La estabilidad química del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización, se determinó mediante la comparación de una muestra mantenida a temperatura ambiente y humedad relativa (muestra de referencia) con muestras almacenadas a distintas temperaturas y humedades relativas como se indica anteriormente en la presente (las muestras comparativas, Cuadro 8). Las muestras de referencia y comparativas se analizaron luego por HPLC utilizando el método descrito en los Procedimientos Generales y mediante inspección visual. Los resultados de este estudio (datos resumidos en el Cuadro 9) revelan que el Compuesto (I), preparado como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólido cristalina B es químicamente estable, aunque se observó un poco de sensibilidad a la luz.

CUADRO 9

Estabilidad química del Compuesto (I) como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B, luego de la micronización

Condiciones de Almacenamiento	Suma de las impurezas por HPLC (%) ¹		Aspecto ¹	
	1 semana	4 semanas	1 semana	4 semanas
T = cero	0.66	NE	blancuzco	NE
0,3 días, luz ICH ²	1.44	NE	blancuzco	NE
80°C	0.73	NE	blancuzco	NE
70°C / 75% HR	0.73	NE	blancuzco	NE
40°C / 75% HR	0.66	0.68	blancuzco	blancuzco
50°C	0.69	0.66	blancuzco	blancuzco
TA / <5% de HR	NE	0.67	NE	blancuzco
TA / 56% HR	NE	0.67	NE	blancuzco
TA / 75% HR	NE	0.67	NE	blancuzco

1. NE en este sistema de ensayo; 2. Luz de día estimulada: gabinete de luz de 700 W/m².

EJEMPLO 9**Preparación de formulaciones farmacéuticas**

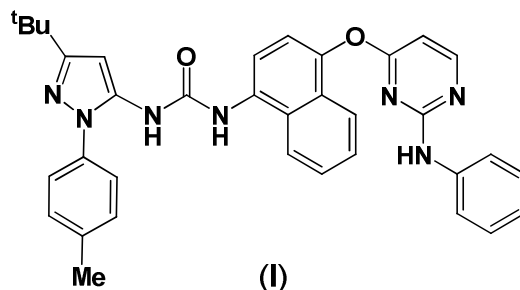
Una formulación farmacéutica ejemplar de la invención consistiría de 0.4% en peso del Compuesto (I) (como la base libre anhidra en la forma polimórfica sólida cristalina B), 98.6% en peso de lactosa monohidrato (grado de inhalación) y 1.0% en peso de estearato de magnesio, en la cual el % en peso de todos los componentes está basado en el peso de la formulación farmacéutica seca.

A lo largo de la especificación y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende" implican la inclusión de un número entero, paso, grupo de números enteros o grupo de pasos indicados, pero no la exclusión de cualquier otro número entero, paso, grupo de números enteros o grupos de pasos.

Todas las patentes y solicitudes de patente citadas en la presente se incorporan en su totalidad.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de la fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, incluyendo todos los estereoisómeros y tautómeros del mismo.

2.- El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, como la base libre.

3.- El compuesto de conformidad con la reivindicación 2, como la base libre anhidra en forma sólida cristalina.

4.- El compuesto de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado además porque el compuesto de la fórmula (I) como la base libre anhidra está en forma sólida cristalina que tiene el patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 1 (Forma A).

5.- El compuesto de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado además porque el compuesto de la fórmula (I) como la base libre anhidra está en forma sólida cristalina que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que contiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete picos seleccionados entre (± 0.2) 10.3, 15.2, 17.5, 23.1, 24.6, 26.7 y 27.4 grados 2-theta.

6.- El compuesto de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado además porque el compuesto de la fórmula (I) como la base libre anhidra está en forma sólida cristalina que tiene el patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 2 (Forma B).

7.- El compuesto de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado además porque el compuesto de la fórmula (I) como la base libre anhidra está en forma

sólida cristalina que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que contiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos todos seleccionados entre (± 0.2) 3.9, 6.1, 11.8, 14.3, 16.7, 18.3, 18.7 y 28.9 grados 2 θ .

8.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en combinación con uno o más diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

9.- Un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para usarse como un medicamento.

10.- Un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, para usarse en el tratamiento o la prevención de exacerbaciones en pacientes con enfermedad respiratoria crónica tal como la COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática.

11.- Un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, para usarse en el tratamiento o la prevención de una afección seleccionada entre: COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, inflamación de las articulaciones secundaria a la artritis reumatoide o la osteoartritis, artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y la metástasis de tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno.

12.- El uso de un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una afección seleccionada entre: COPD (incluyendo

bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, hipertensión pulmonar, conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, inflamación de las articulaciones secundaria a la artritis reumatoide o la osteoartritis, artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y la metástasis de tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno.

13.- Un método de tratamiento de una afección seleccionada entre COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis quística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, inflamación de las articulaciones secundaria a la artritis reumatoide o la osteoartritis, artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y la metástasis de tumores, incluyendo carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinoma colorrectal y melanoma maligno que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8.

14.- Un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, para usarse en el tratamiento o la prevención de infecciones respiratorias virales en pacientes con afecciones crónicas tales como insuficiencia cardíaca congestiva, diabetes, cáncer, o en pacientes inmunosuprimidos, por ejemplo luego de un trasplante de órgano.

15.- Un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 en combinación con el tratamiento antiviral tal como zanamivir u oseltamivir (por ejemplo, fosfato de osetalmivir) para usarse en el tratamiento o la prevención de infecciones respiratorias virales en pacientes con afecciones crónicas tales como

insuficiencia cardíaca congestiva, diabetes, cáncer, o en pacientes inmunosuprimidos, por ejemplo luego de un trasplante de órgano.

16.- Un producto de combinación que comprende: (A) un compuesto de la fórmula (I) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7; y (B) otro agente terapéutico; en donde cada uno de los componentes (A) y (B) está formulado en mezcla con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable; en el que dicho producto de combinación puede ser o bien una sola formulación farmacéutica o un kit de partes.

		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) No. de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 403/12	
(22) Fecha de solicitud: 21-03-14		(71) Solicitante(s): RESPIVERT LIMITED	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	11183682.1	03-10-11	EP
	11183688.8	03-10-11	EP
	12168396.5	16-05-12	EP
	12168395.7	16-05-12	EP
		(72) Inventor(es): ITO, Kazuhiro; CHARRON, Catherine Elisabeth; KING-UNDERWOOD, John; ONIONS, Stuart Thomas; LONGSHAW, Alistair Ian; BROECKX, Rudy; FILLIERS, Walter y COPMANS, Alex.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 03-05-14		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 11-04-13
	Fecha de presentación de la solicitud: 03-10-12		No. publicación: WO 2013/050757 A1
	No. de solicitud: PCT/GB2012/052445		
(54) Título: “1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA”			

Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

Se proporciona un compuesto de la fórmula (I) que es un inhibidor de la familia de enzimas cinasas de la proteína activada por el mitógeno p38, y su uso en terapia, incluido en combinaciones farmacéuticas, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD.

Sector: Sector farmacéutico. Compuestos inhibidores de P38 MAP cinasas, útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD.

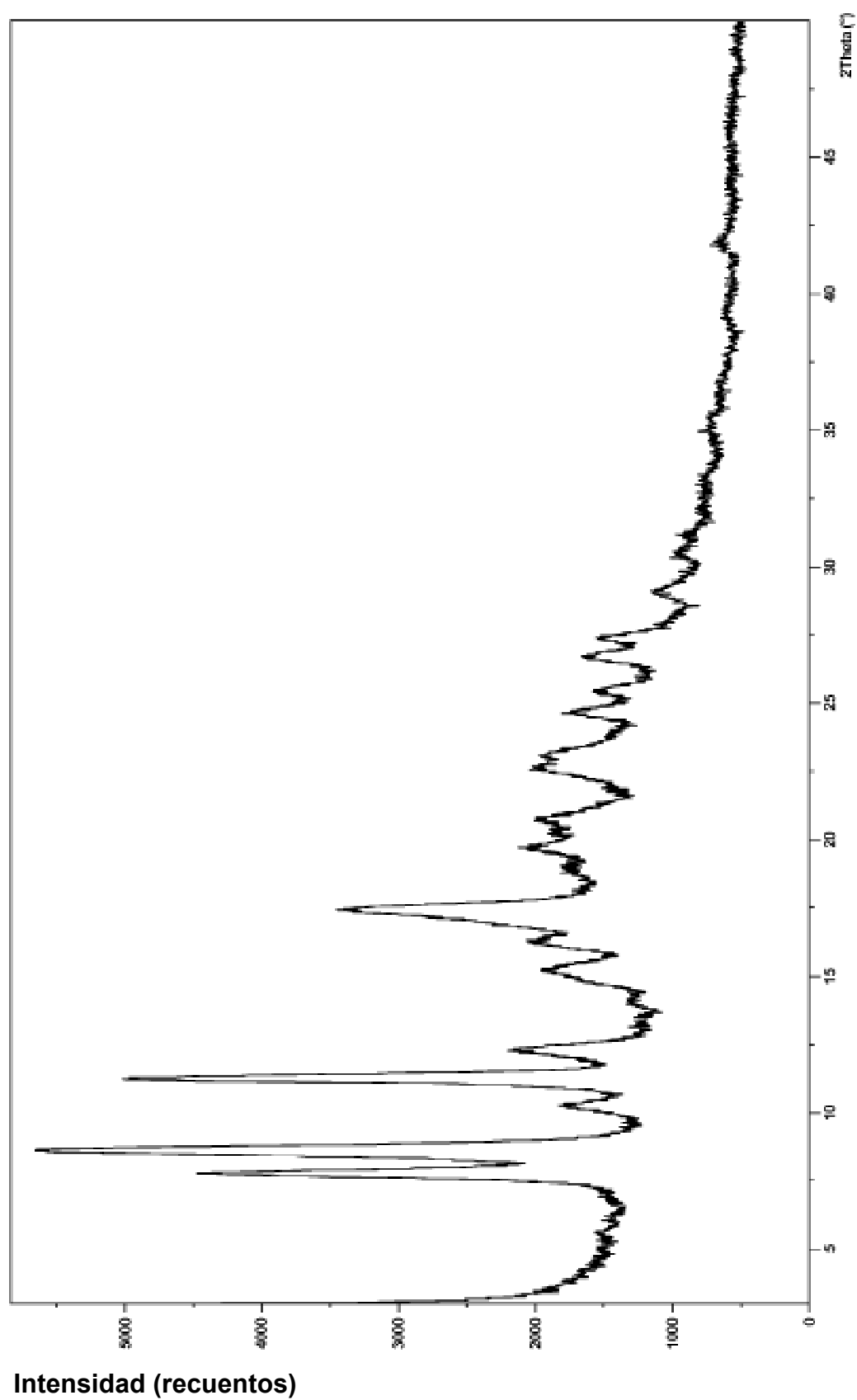
Figura 1

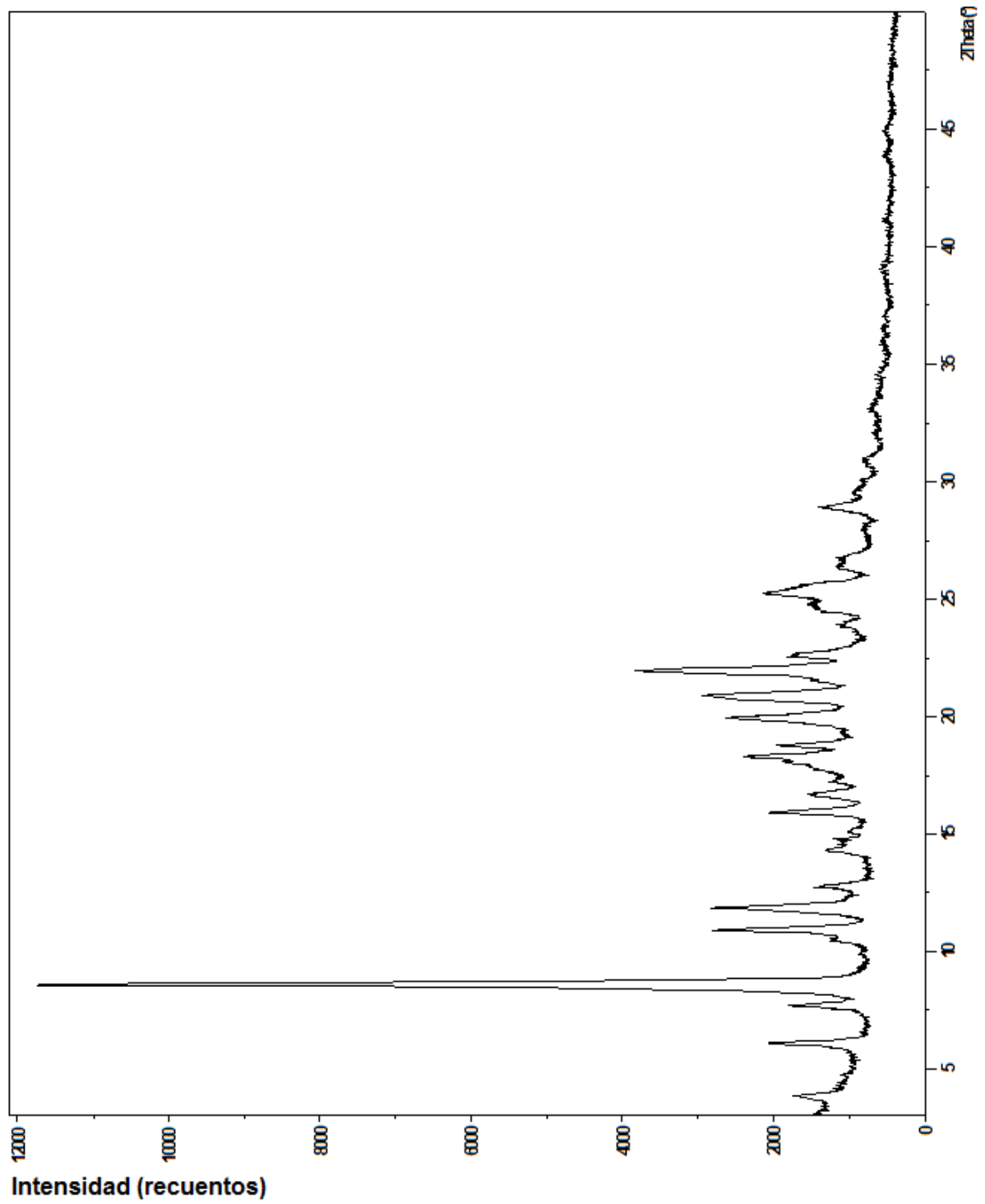
Figura 2

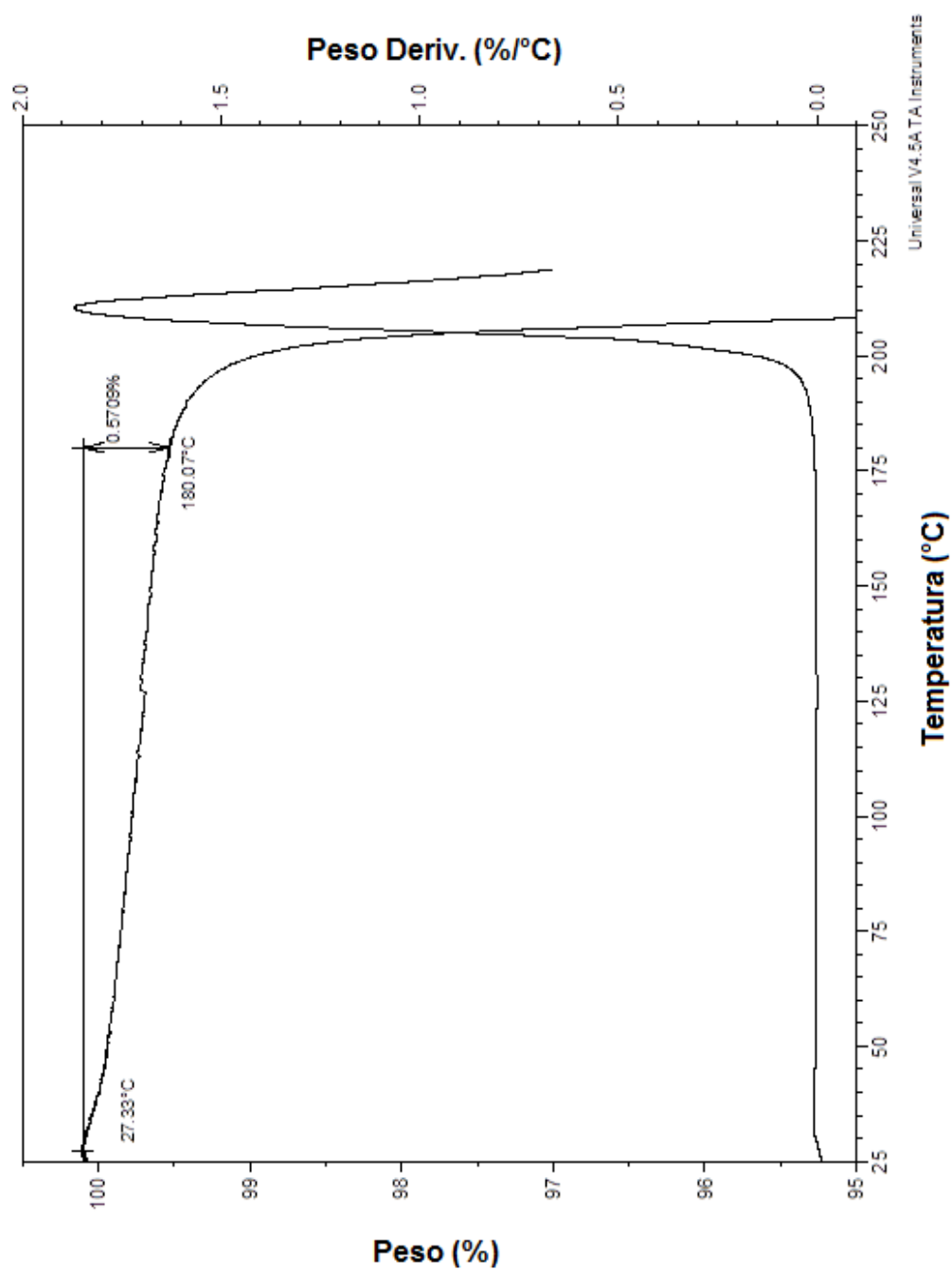
Figura 3

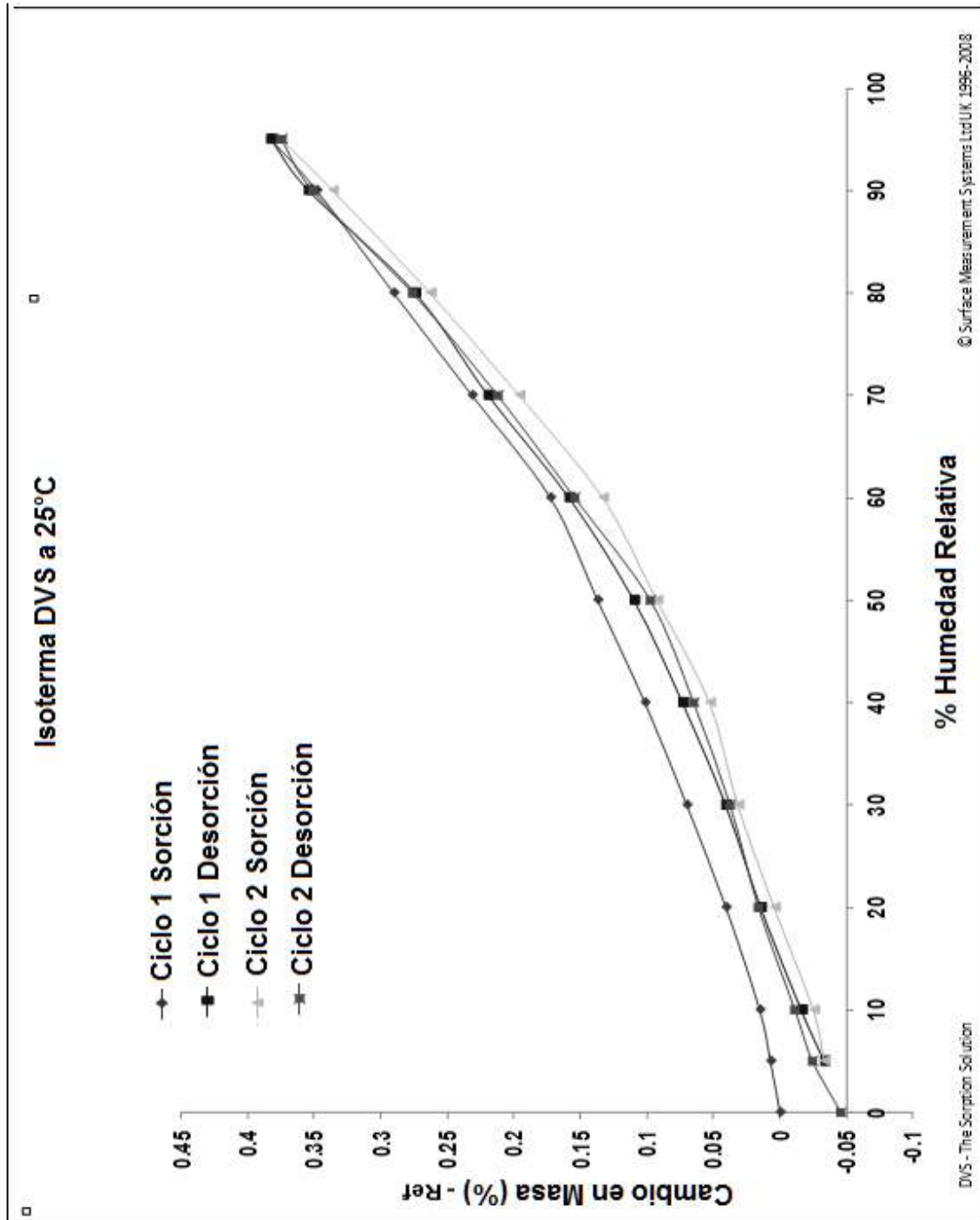
Figura 4

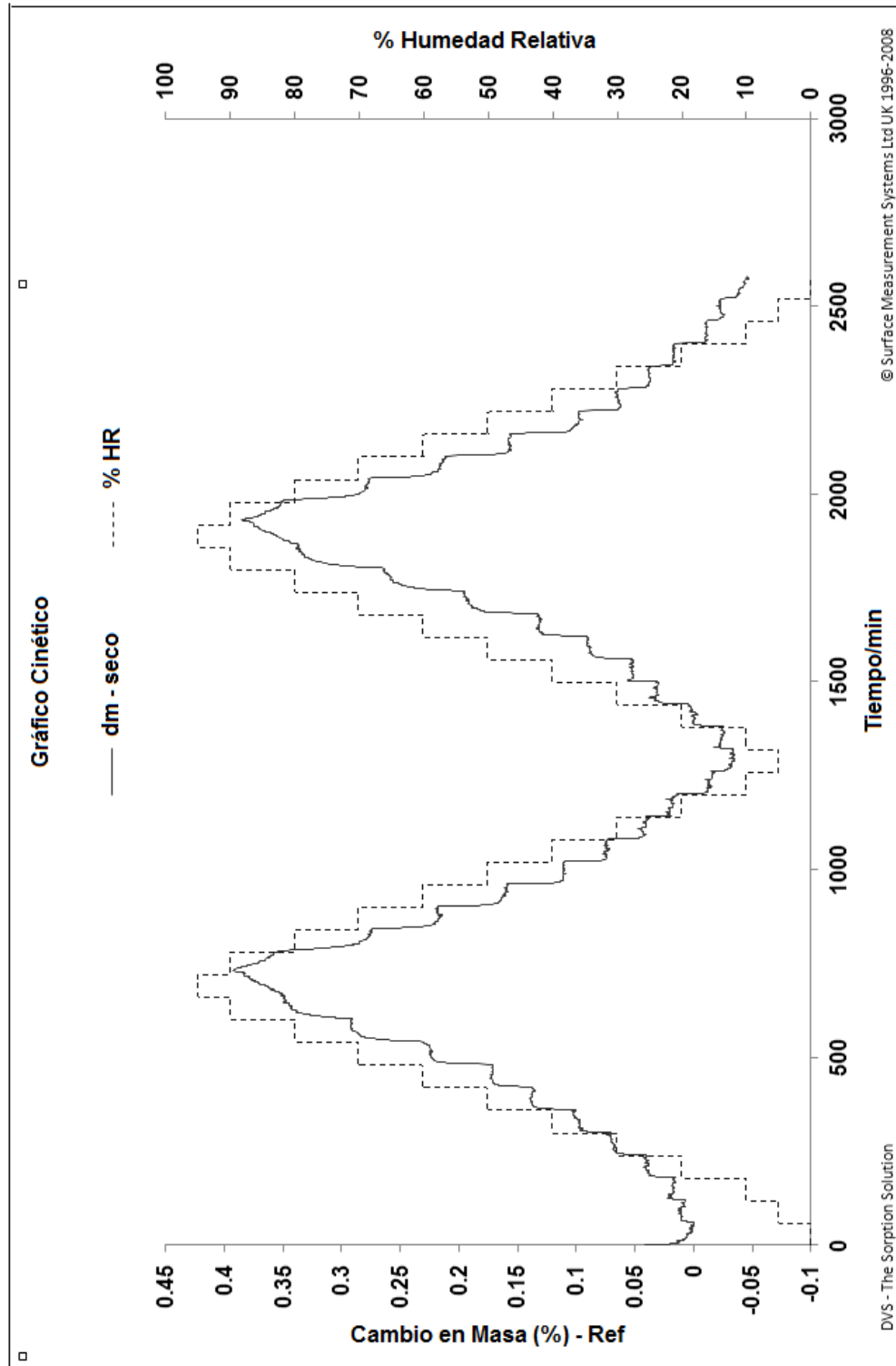
Figura 5

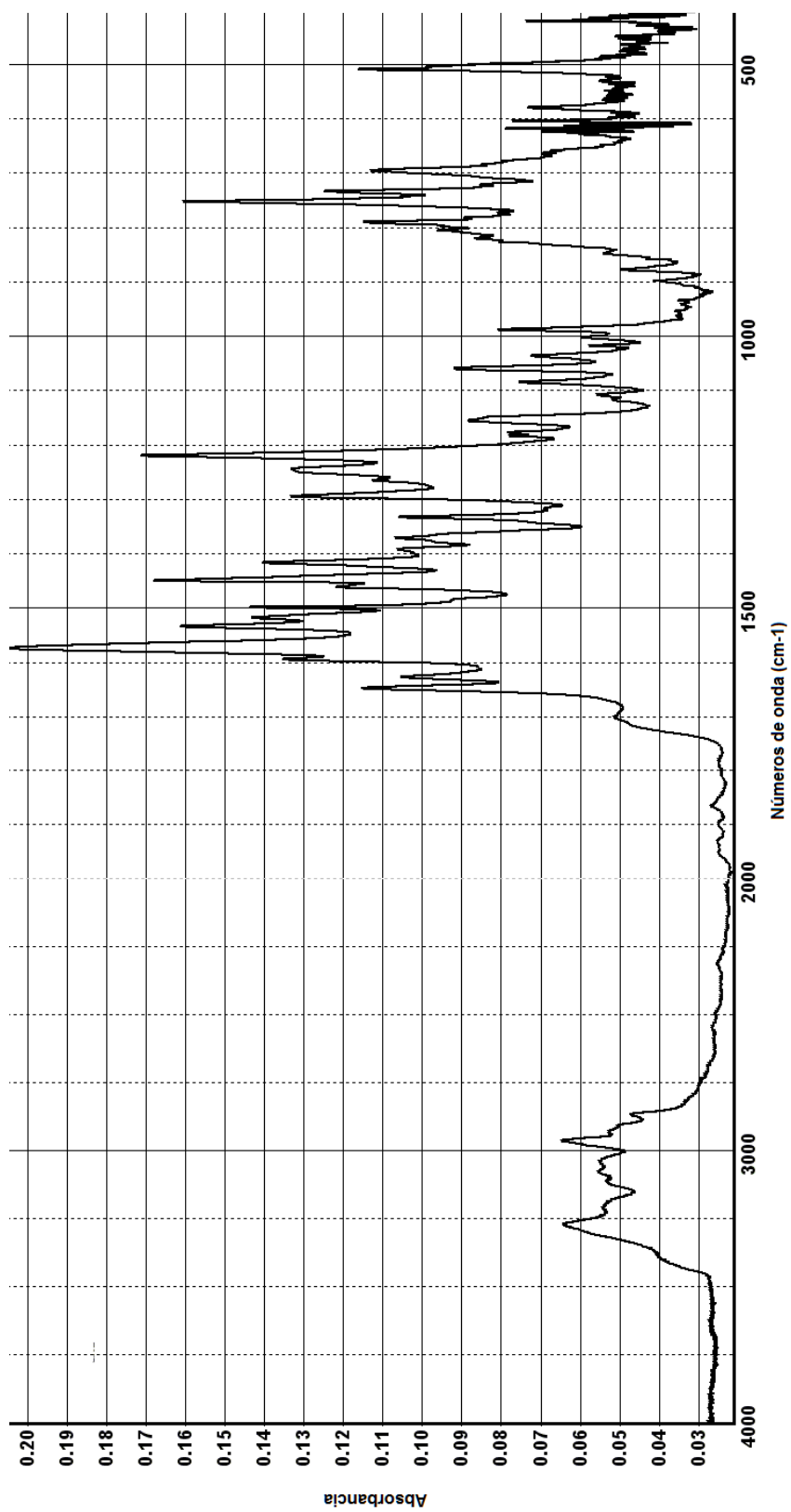
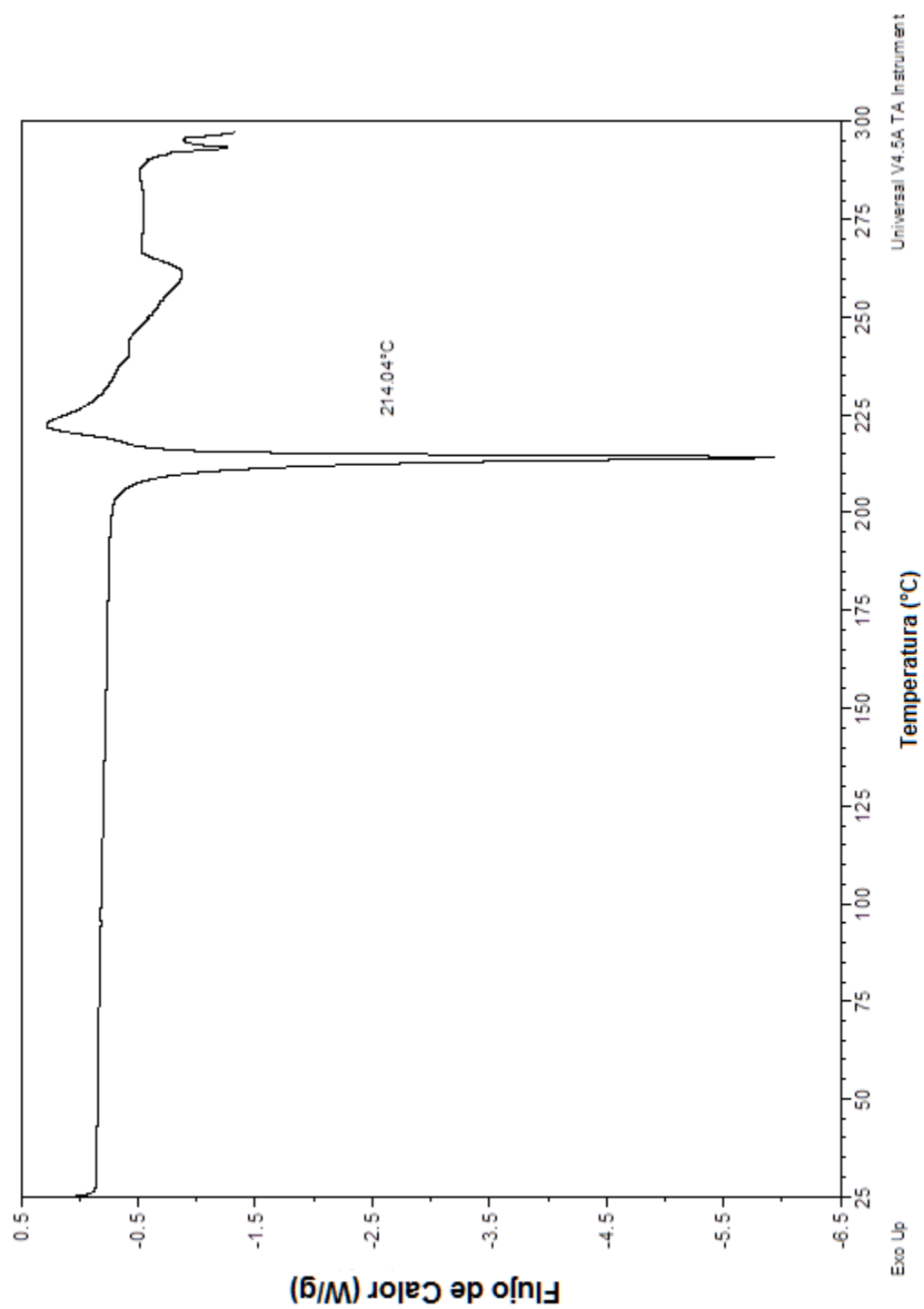
Figura 6

Figura 7

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

Teuten, Andrew John
Sagittarius IP
Three Globeside
Fieldhouse Lane
Marlow, Buckinghamshire SL7 1HZ
ROYAUME UNI

SAGITTARIUS I.P.

25 NOV 2013

RECEIVED WITH THANKS

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

22.11.2013

Applicant's or agent's file reference
RES-P1327PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

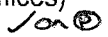
International application No.
PCT/GB2012/052445 ✓

International filing date (day/month/year)
03.10.2012 ✓

Priority date (day/month/year)
03.10.2011 ✓

Applicant
Respivert Limited ✓

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301). 

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Pfitzner, Gabriele

Tel. +49 89 2399-8032



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference RES-P1327PCT	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/IPEA/416	
International application No. PCT/GB2012/052445	International filing date (day/month/year) 03.10.2012	Priority date (day/month/year) 03.10.2011
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C07D403/12		
Applicant Respivert Limited		
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☐ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of sheets, as follows: ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority, unless those sheets were superseded or cancelled, and any accompanying letters (see Rules 46.5, 66.8, 70.16, 91.2, and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets containing rectifications, where the decision was made by this Authority not to take them into account because they were not authorized by or notified to this Authority at the time when this Authority began to draw up this report, and any accompanying letters (Rules 66.4bis, 70.2(e), 70.16 and 91.2). ☐ superseded sheets and any accompanying letters, where this Authority either considers that the superseding sheets contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, or the superseding sheets were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box (see Rule 70.16(b)). b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3bis of Annex C of the Administrative Instructions).		
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☒ Box No. II Priority ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☒ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand	Date of completion of this report	
26.07.2013	22.11.2013	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer Herz, Claus Telephone No. +49 89 2399-8275 	

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/GB2012/052445

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a) and (b))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*:

Description, Pages

1-41 as originally filed

Claims, Numbers

1-16 as originally filed

Drawings, Sheets

1/7-7/7 as originally filed

- ☐ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.
3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
 - ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
5. ☐ This report has been established:
- ☐ taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.1(d-bis) and 70.2(e)).
 - ☐ without taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91(Rules 66.4bis and 70.2(e)).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/GB2012/052445

6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) has/have been received and taken into account in establishing this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

Box No. II Priority

1. ☒ This report has been established as if no priority had been claimed due to the failure to furnish within the prescribed time limit the requested:
☒ copy of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 66.7(a)).
☐ translation of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 66.7(b)).
2. ☐ This report has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rule 64.1). Thus for the purposes of this report, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-16</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-16</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-16</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

see separate sheet

Re Item No. V

Regarding Claim 13 patentability thereof can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

With regard to the results of comparative tests (Applicant's letter dated 26/07/13) against compounds disclosed in this prior art which are closely related in structure to those presently claimed, a surprising improvement has been demonstrated being indicative of a proper selection from the relevant state of the art, document D1, (novelty, Art. 33 (2) PCT) and inventive solution of the technical problem of providing compounds exhibiting a significantly improved p38 MAP kinase inhibitory activity (Art. 33 (3) PCT).

Re Item No. VI

The priority documents pertaining to the present application were not available at the time of establishing the first written opinion. Hence, it is based on the assumption that all claims enjoy priority rights from the filing date of the priority document. If it later turns out that this is not correct documents WO2011/158038 and WO2011/158042 cited in the International Search Report could become relevant in order to assess whether the claims satisfy the criteria set forth in Article 33 (1) PCT.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/GB2012/052445

International filing date (day/month/year)
03.10.2012

Priority date (day/month/year)
03.10.2011

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D403/12 A61K31/4155 A61K31/506 C07D491/10

Applicant
RESPIVERT LIMITED

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office

D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Herz, Claus

Telephone No. +49 89 2399-8275



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/GB2012/052445

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1 (a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43bis.1 and 64.1) is the claimed priority date.
2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/GB2012/052445

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-16</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-16</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-16</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

and /or

2. Non-written disclosures (Rules 43bis.1 and 70.9)

see form 210

V. Regarding Claim 13 patentability thereof can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

Although the group of compounds claimed in the present application overlaps with the broad group defined in WO03/072569 (D1), it embraces no specifically disclosed compounds from D1. Provided also that the overlapping area represents a proper selection, which means that it is more than an arbitrarily chosen example from D1 having merely the same kind of properties and capabilities as the prior art, novelty of the common area could be recognised. However, this is presently not the case for the following reasons.

Substituted amines as substituent in position 2 of the pyrimidine ring are already known from the documents cited in the Search Report. Due to the fact that the choice of the anilino substituent at position 2 of the pyrimidine ring is within the scope already envisaged in D1 there must be an expectation of the qualitative retention of the kinase inhibitory activity at least to the same degree when arbitrarily choosing the substituents on the pyrimidine ring. Thus representing only predictable effects the compounds claimed are considered to be obvious.

Consequently, at present, Claims 1 to 16 are lacking inventive step under Article 33 (3) PCT.

Accordingly it is to be demonstrated wherein the inventive step lies in the compounds claimed, e.g. by showing a significant improvement in the property relevant to the solution of the stated problem. If it is chosen to give evidence using comparative tests, these must be carried out in respect of the closest state of the art. This is necessary to show convincingly that any unexpected effect indeed originates from the distinguishing feature, in the present case the specific substituent at position 2 of the pyrimidine ring.

In addition in this case, in view of the closeness of the prior art and the scarcity of the evidence presently on file, it should be credible that the effect occurs over the whole claimed range.

VI. The priority documents pertaining to the present application were not available at the time of establishing the first written opinion. Hence, it is based on the assumption that all claims enjoy priority rights from the filing date of the priority document. If it later turns out that this is not correct documents WO2011/158038 and WO2011/158042 cited in the International Search Report could become relevant in order to assess whether the claims satisfy the criteria set forth in Article 33 (1) PCT.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
---------------------	---

Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
-----------------------------------	---

Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
---	---

Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
--------------------------	--

End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
--------------------------------	---

Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003
---	--

ANEXO

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


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

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

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

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

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

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

Protocolo No. 5601 / 19

Sello Notarial

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

APOSTILLA

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

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

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

Certificado

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

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
07476362

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

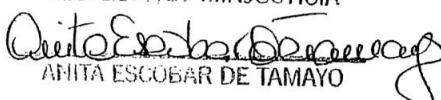
Una apostilla o certificado de legalización únicamente confirma que la firma, sello o estampilla sobre el documento es auténtica. No significa que el contenido del documento sea correcto o que la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth apruebe el contenido.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

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

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

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



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

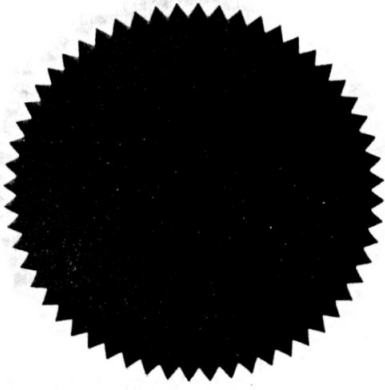
CERTIFY ONLY that the document annexed hereto bears the signature of
WILLIAM GARTH RAPEPORT whose identity I the Notary attest, who is a
duly appointed Director of Respivert Limited and who thereby has ostensible
authority to sign the said document on the said Company's behalf.

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



Stephen David Finn
Notary Public
England & Wales

Protocol No. 5601/19



No firmados,

RESPIVERT LIMITED
Una sociedad organizada y
con domicilio en

APOSTILLE

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

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

- 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
- Has been signed by **Stephen David Finn**
a été signé par
- Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de
- Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de
- at London/à Londres
- Certified/Attesté
6. the/le **31 May 2011**
- 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.
- Number/sous No **I889203**
- Stamp:
timbre:
- Signature: **C. Woolley**




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

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5th October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

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

RES-P893CO/90
POA Grineal

Bajo firmados,

RESPIVERT LIMITED

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

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

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

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

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

Dado y firmado

The undersigned,

RESPIVERT LIMITED

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

domiciled at

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

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

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

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

Given and signed this 16TH day of MARCH, 2011



W.G. RAPEPORT
MANAGING DIRECTOR

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



(51) International Patent Classification:

C07D 403/12 (2006.01) A61K 31/506 (2006.01)

A61K 31/4155 (2006.01) C07D 491/10 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/GB2012/052445

(22) International Filing Date:

3 October 2012 (03.10.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

11183682.1 3 October 2011 (03.10.2011) EP

11183688.8 3 October 2011 (03.10.2011) EP

12168396.5 16 May 2012 (16.05.2012) EP

12168395.7 16 May 2012 (16.05.2012) EP

(71) Applicant: RESPIVERT LIMITED [GB/GB]; 50-100 Holmers Farm Way, High Wycombe, Buckinghamshire, HP12 4EG (GB).

(72) Inventors: ITO, Kazuhiro; c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ (GB). CHARRON, Catherine Elisabeth; c/o Respivert Limited, Imperial College BioIncubator, Level 1, Bessemer Building, Imperial College London SW7 2AZ (GB). KING-UNDERWOOD, John; Moorend Cottage, School Lane, Pendock, Worcestershire, GL19 3PW (GB). ONIONS, Stuart Thomas; c/o Sygnature Chemical Services Ltd, Biocity Nottingham, Pennyfoot Street, Nottingham, NG1 1GF (GB). LONGSHAW, Alistair Ian; c/o Sygnature Chemical Services Ltd, Biocity Nottingham, Pennyfoot Street, Nottingham, Nottinghamshire NG1 1GF (GB). BROECKX, Rudy; c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE). FILLIERS,

Walter; c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE). COPMANS, Alex; c/o Janssen Pharmaceutica NV, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).

(74) Agents: TEUTEN, Andrew et al.; Sagittarius IP, Three Globeside, Fieldhouse Lane, Marlow, Buckinghamshire SL7 1HZ (GB).

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

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

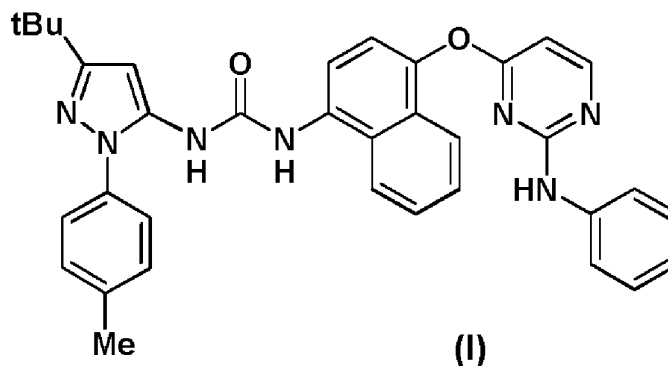
Declarations under Rule 4.17:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: 1-PYRAZOLYL-3- (4- ((2 -ANILINOPYRIMIDIN- 4 - YL) OXY) NAPHTHALEN- 1 - YL) UREAS AS P38 MAP KINASE INHIBITORS



(57) Abstract: There is provided a compound of formula (I) which is an inhibitor of the family of p38 mitogen-activated protein kinase enzymes, and to its use in therapy, including in pharmaceutical combinations, especially in the treatment of inflammatory diseases, including inflammatory diseases of the lung, such as asthma and COPD.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference RES - P1327PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/GB2012/052445	International filing date (<i>day/month/year</i>) 03/10/2012	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 03/10/2011
Applicant RESPIVERT LIMITED		

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

This international search report consists of a total of 5 sheets.

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

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

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

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

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

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

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

**1 - PYRAZOLYL - 3 - (4 - ((2 - ANILINOPYRIMIDIN - 4 - YL) OXY) NAPHTHALEN - 1 - YL) UREAS AS P38
MAP KINASE INHIBITORS**

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2012/052445

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D403/12 A61K31/4155 A61K31/506 C07D491/10
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K

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 practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS 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 03/072569 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA [US]) 4 September 2003 (2003-09-04) claims 1-13	1-16
Y	WO 2010/067130 A1 (RESPIVERT LTD; ITO KAZUHIRO [GB]; STRONG PETER [GB]; RAPEPORT WILLIAM) 17 June 2010 (2010-06-17) claims 1-19	1-16
Y	WO 2010/067131 A1 (RESPIVERT LTD.) 17 June 2010 (2010-06-17) claims 1-22	1-16
Y	WO 2010/112936 A1 (RESPIVERT LTD [GB]; ITO KAZUHIRO [GB]; STRONG PETER [GB]; RAPEPORT WIL) 7 October 2010 (2010-10-07) claims 1-9	1-16
	- / - -	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

"L" document which may throw 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

5 November 2012

Date of mailing of the international search report

12/11/2012

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Herz, Claus

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2012/052445

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2011/158039 A1 (RESPIVERT LTD [GB]; CASS LINDSEY [GB]; ITO KAZUHIRO [GB]; RAPEPORT WIL) 22 December 2011 (2011-12-22) claims 1-21 -----	1-16
X,P	WO 2011/158042 A2 (RESPIVERT LTD [GB]; CHARRON CATHERINE ELISABETH [GB]; ITO KAZUHIRO [GB]) 22 December 2011 (2011-12-22) claims 1-38 -----	1-16
Y	WO 2011/070368 A1 (RESPIVERT LTD [GB]; KING-UNDERWOOD JOHN [GB]; ITO KAZUHIRO [GB]; STRON) 16 June 2011 (2011-06-16) claims 1-25 -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2012/052445

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03072569	A1	04-09-2003	AT 386030 T 15-03-2008
		AU 2003213806 A1 09-09-2003	
		CA 2473634 A1 04-09-2003	
		DE 60319066 T2 26-02-2009	
		EP 1480973 A1 01-12-2004	
		ES 2299689 T3 01-06-2008	
		JP 4629978 B2 09-02-2011	
		JP 2005518447 A 23-06-2005	
		US 2003232865 A1 18-12-2003	
		WO 03072569 A1 04-09-2003	
WO 2010067130	A1	17-06-2010	AU 2009326148 A1 17-06-2010
		AU 2009326149 A1 17-06-2010	
		CA 2746354 A1 17-06-2010	
		CA 2746357 A1 17-06-2010	
		CN 102333770 A 25-01-2012	
		CN 102341384 A 01-02-2012	
		EP 2370428 A1 05-10-2011	
		EP 2370429 A1 05-10-2011	
		JP 2012511563 A 24-05-2012	
		JP 2012511564 A 24-05-2012	
		KR 20110094127 A 19-08-2011	
		KR 20110094130 A 19-08-2011	
		US 2011294812 A1 01-12-2011	
		US 2011312963 A1 22-12-2011	
		WO 2010067130 A1 17-06-2010	
		WO 2010067131 A1 17-06-2010	
WO 2010067131	A1	17-06-2010	AU 2009326148 A1 17-06-2010
		AU 2009326149 A1 17-06-2010	
		CA 2746354 A1 17-06-2010	
		CA 2746357 A1 17-06-2010	
		CN 102333770 A 25-01-2012	
		CN 102341384 A 01-02-2012	
		EP 2370428 A1 05-10-2011	
		EP 2370429 A1 05-10-2011	
		JP 2012511563 A 24-05-2012	
		JP 2012511564 A 24-05-2012	
		KR 20110094127 A 19-08-2011	
		KR 20110094130 A 19-08-2011	
		US 2011294812 A1 01-12-2011	
		US 2011312963 A1 22-12-2011	
		WO 2010067130 A1 17-06-2010	
		WO 2010067131 A1 17-06-2010	
WO 2010112936	A1	07-10-2010	AU 2010231120 A1 08-09-2011
		CA 2754609 A1 07-10-2010	
		CN 102395575 A 28-03-2012	
		CO 6501168 A2 15-08-2012	
		EA 201171213 A1 30-03-2012	
		EP 2414347 A1 08-02-2012	
		JP 2012522760 A 27-09-2012	
		KR 20120006033 A 17-01-2012	
		PE 05162012 A1 09-05-2012	
		SG 174139 A1 28-10-2011	
		US 2012136031 A1 31-05-2012	
		WO 2010112936 A1 07-10-2010	

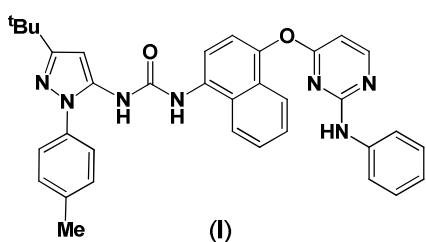
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2012/052445

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011158039	A1	22-12-2011	NONE
WO 2011158042	A2	22-12-2011	NONE
WO 2011070368	A1	16-06-2011	UY 33097 A 30-06-2011
		WO 2011070368 A1	16-06-2011

 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____																																					
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 21-03-14 (51) Clasificación Internacional: C07D 403/12 (71) Solicitante(s): RESPIVERT LIMITED (72) Inventor(es): ITO, Kazuhiro; CHARRON, Catherine Elisabeth; KING-UNDERWOOD, John; ONIONS, Stuart Thomas; LONGSHAW, Alistair Ian; BROECKX, Rudy; FILLIERS, Walter y COPMANS, Alex. (74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE <table><tr><td>(30) Prioridad</td><td>(31)</td><td>No. Prioridad</td><td>(32)</td><td>Fecha</td><td>(33)</td><td>País</td></tr><tr><td></td><td></td><td>11183682.1</td><td></td><td>03-10-11</td><td></td><td>EP</td></tr><tr><td></td><td></td><td>11183688.8</td><td></td><td>03-10-11</td><td></td><td>EP</td></tr><tr><td></td><td></td><td>12168396.5</td><td></td><td>16-05-12</td><td></td><td>EP</td></tr><tr><td></td><td></td><td>12168395.7</td><td></td><td>16-05-12</td><td></td><td>EP</td></tr></table> (85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-05-14 (86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT Fecha de presentación de la solicitud: 03-10-12 No. de solicitud: PCT/GB2012/052445 (87) Publicación internacional: Fecha: 11-04-13 No. Publicación: WO 2013/050757 A1		(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País			11183682.1		03-10-11		EP			11183688.8		03-10-11		EP			12168396.5		16-05-12		EP			12168395.7		16-05-12		EP	 (I)
(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País																															
		11183682.1		03-10-11		EP																															
		11183688.8		03-10-11		EP																															
		12168396.5		16-05-12		EP																															
		12168395.7		16-05-12		EP																															
(54) Título: 1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA.																																					
(57) Resumen - Reivindicación(es): Resumen.- Se proporciona un compuesto de la fórmula (I) que es un inhibidor de la familia de enzimas cinasas de la proteína activada por el mitógeno p38, y su uso en terapia, incluido en combinaciones farmacéuticas, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD. Sector: Sector farmacéutico. Compuestos inhibidores de P38 MAP cinasas, útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias del pulmón, tales como asma y COPD.																																					

 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____																																					
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 21-03-14 (51) Clasificación Internacional: C07D 403/12 (71) Solicitante(s): RESPIVERT LIMITED (72) Inventor (es): ITO, Kazuhiro; CHARRON, Catherine Elisabeth; KING-UNDERWOOD, John; ONIONS, Stuart Thomas; LONGSHAW, Alistair Ian; BROECKX, Rudy; FILLIERS, Walter y COPMANS, Alex. (74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE <table><tr><td>(30) Prioridad</td><td>(31)</td><td>No. Prioridad</td><td>(32)</td><td>Fecha</td><td>(33)</td><td>País</td></tr><tr><td></td><td></td><td>11183682.1</td><td></td><td>03-10-11</td><td></td><td>EP</td></tr><tr><td></td><td></td><td>11183688.8</td><td></td><td>03-10-11</td><td></td><td>EP</td></tr><tr><td></td><td></td><td>12168396.5</td><td></td><td>16-05-12</td><td></td><td>EP</td></tr><tr><td></td><td></td><td>12168395.7</td><td></td><td>16-05-12</td><td></td><td>EP</td></tr></table> (85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-05-14 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 03-10-12 No. de solicitud: PCT/GB2012/052445 (87) Publicación internacional Fecha: 11-04-13 No. publicación: WO 2013/050757 A1		(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País			11183682.1		03-10-11		EP			11183688.8		03-10-11		EP			12168396.5		16-05-12		EP			12168395.7		16-05-12		EP	
(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País																															
		11183682.1		03-10-11		EP																															
		11183688.8		03-10-11		EP																															
		12168396.5		16-05-12		EP																															
		12168395.7		16-05-12		EP																															
(54) Título: 1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA.																																					