

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 570**

51 Int. Cl.:

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

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2011 E 11787742 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.12.2014 EP 2630149**

54 Título: **Derivados de quinazolin-4(3H)-ona, que se usan como agentes inhibidores de las PI3 cinasas**

30 Prioridad:

18.10.2010 TW 099135360
19.10.2010 WO PCT/EP2010/065746

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.04.2015

73 Titular/es:

RESPIVERT LIMITED (100.0%)
50-100 Holmers Farm Way
High Wycombe Buckinghamshire HP12 4EG, GB

72 Inventor/es:

KING-UNDERWOOD, JOHN;
ITO, KAZUHIRO;
MURRAY, PETER JOHN;
HARDY, GEORGE;
BROOKFIELD, FREDERICK ARTHUR y
BROWN, CHRISTOPHER JOHN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 533 570 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de quinazolin-4(3H)-ona, que se usan como agentes inhibidores de las PI3 cinasas

Campo del invento

5 El invento se refiere a un compuesto que inhibe a las fosfoinositido 3 cinasas (PI3 cinasas). En particular, el invento se refiere a un compuesto que inhibe al subtipo delta de las PI3 cinasas y, además, a los subtipos gamma y alfa de las mismas, y a su uso en la terapia, incluyendo en combinaciones farmacéuticas, especialmente en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias, que incluyen unas enfermedades inflamatorias de los pulmones, tales como una COPD y un asma. La divulgación se extiende también a unos métodos para preparar dicho compuesto y a unas composiciones farmacéuticas que lo comprenden.

10 Antecedentes del invento

15 Las cinasas de lípidos catalizan la fosforilación de los lípidos para producir unas especies químicas que están implicadas en la regulación de una amplia gama de procesos fisiológicos, incluyendo la migración y la adhesión celulares. Las PI3 cinasas son unas proteínas asociadas con membranas y pertenecen a esta clase de enzimas que catalizan la fosforilación de unos lípidos, que por su parte están asociados con membranas celulares. La isozima PI3 cinasa (δ) delta (= PI3 cinasa δ) es una de las cuatro isoformas de las PI3 cinasas del tipo I que son responsables de generar diversos fosfoinositidos fosforilados en la posición 3', que median en la señalización celular y han sido implicados en un cierto número de procesos celulares tales como los de inflamación, señalización de factores de crecimiento, transformación maligna e inmunidad [véase la recopilación de Rameh, L. E. y Cantley, L. C. *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274:8347-8350].

20 La implicación de las PI3 cinasas en controlar una inflamación ha sido confirmada en diversos modelos que usan unos agentes inhibidores de la pan-PI3 cinasa, tal como el **LY-294002** y la wortmanina [Ito, K. y colaboradores, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2007**, 321:1-8]. Se han realizado unos recientes estudios que usan o bien unos agentes inhibidores selectivos de las PI3 cinasas o en unos ratones modificados genéticamente que está desprovistos de inmunidad (knockout mice) los cuales carecen de una isoforma de enzima específica. Estos estudios han demostrado el cometido de unas rutas controladas por las enzimas PI3 cinasas en una inflamación. Se encontró que el agente inhibidor selectivo de la PI3 cinasa δ **IC-87114** inhibe a una hipersensibilidad de las vías respiratorias, a una liberación de la IgE, una expresión de citocinas pro-inflamatorias, una acumulación de células inflamatorias dentro de los pulmones y una permeabilidad vascular en ratones desafiados con ovoalbúmina y sensibilizados con ovoalbúmina [Lee, K. S. y colaboradores, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **2006**, 118:403-409 y Lee, K. S. y colaboradores, *FASEB J.*, **2006**, 20:455-65]. Además, el **IC-87114** disminuía la acumulación de neutrófilos en los pulmones de ratones y la función de los neutrófilos, estimulada por el TNF α [Sadhu, C. y colaboradores, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2003**, 308:764-9]. La isoforma δ de las PI3 cinasas es activada por la insulina y por otros factores de crecimiento así como también por citocinas de la señalización de proteínas acoplada con la proteína G e inflamatorias. Recientemente se informó de que el agente inhibidor doble de las PI3 cinasas δ/γ **TG100-115** inhibe a la eosinofilia pulmonar y a la interleucina-13 así como a la acumulación de mucina y a la hipersensibilidad de las vías respiratorias en un modelo de murino, cuando se administra por aerosolización. Los mismos autores informaron también de que el compuesto era capaz de inhibir la neutrofilia pulmonar provocada o bien por los LPS o por el humo de cigarrillos [Doukas, J. y colaboradores, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2009**, 328:758-765].

40 Puesto que ella es activada también por un estrés oxidativo, es probable que la isoforma δ de la PI3 cinasa sea relevante como un objetivo para una intervención terapéutica en aquellas enfermedades en donde está implicado un alto nivel de estrés oxidativo. Unos mediadores situados corriente debajo de la trayectoria de transducción de señales de las PI3 cinasas, incluyen la Akt (una serina/treonina proteína cinasa) y el objetivo en mamíferos de la rapamicina, es decir la enzima mTOR. Un reciente trabajo ha sugerido que una activación de la PI3 cinasa δ , que conduce a una fosforilación de la Akt, es capaz de inducir un estado de resistencia a los corticoesteroides en unas células que por lo demás son sensibles a los corticoesteroides [To, Y. y colaboradores *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **2010**, 182:897-904]. Estas observaciones han conducido a la hipótesis de que esta cascada de señalización podría ser un mecanismo responsable de la insensibilidad a los corticoesteroides de una inflamación, que se observa en los pulmones de unos pacientes que padecen de una COPD, así como de los asmáticos que fuman, sometiendo de esta manera a sus pulmones a un estrés oxidativo aumentado. Desde luego, se ha sugerido que la teofilina, un compuesto que se usa en el tratamiento tanto de una COPD como de un asma, invierte la insensibilidad a los esteroides a través de unos mecanismos que implican una interacción con unas rutas que son controladas por la PI3 cinasa δ [To, Y. y colaboradores, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **2010**, 182:897-904].

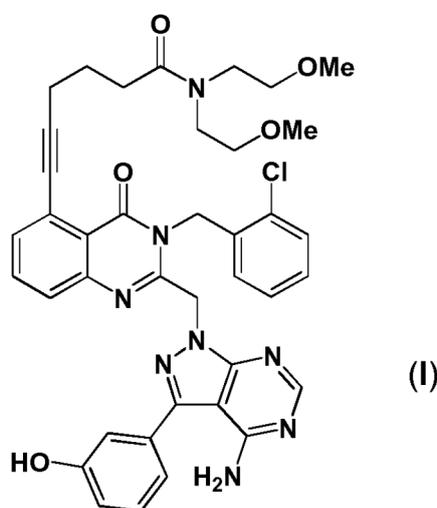
55 En el momento actual, el soporte principal de un tratamiento tanto de un asma como de una COPD es una terapia por inhalación, mediante el uso de una combinación de corticoesteroides, de agentes antagonistas muscarínicos y agentes agonistas β_2 , tal como se juzgue clínicamente apropiado. Una manera de abordar las necesidades médicas no satisfechas en una COPD y un asma consiste en identificar unos nuevos agentes terapéuticos, que por ejemplo sean apropiados para su uso como medicinas inhaladas, que tienen el potencial de proporcionar un beneficio

significativo cuando se usan como una monoterapia o en combinación con uno o más medicamentos tomados entre estas tres clases farmacológicas. Por lo tanto, subsiste una necesidad de identificar y desarrollar unos agentes inhibidores de las PI3 cinasas que son selectivos para isoformas, que tengan el potencial de proporcionar una eficacia terapéutica intensificada en un asma, una COPD y otras enfermedades inflamatorias.

- 5 El documento de solicitud de patente internacional WO2007/114926 (de los Regents of the University of California) divulga unos compuestos que son agentes antagonistas de una PI3 cinasa, de una PI3 cinasa y de una tirosina cinasa, de la PD cinasa y de la mTOR, o de una PI3 cinasa, de la mTOR y de una tirosina cinasa. El documento WO2005/113556 (de ICOS Corporation) divulga unas quinazolininas como agentes inhibidores de la PI3 cinasa delta humana. El documento WO2011/048111 (de RespiVert Ltd) divulga unos compuestos que son agentes inhibidores de las fosfoinositido 3 cinasas (PI3 cinasas) y su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Sumario del invento

De acuerdo con el invento, se proporciona un compuesto de fórmula (I):



- 15 es decir la 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-cloro-bencil)-4-oxo-3,4-dihidro-quinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, incluyendo a todos los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de la misma.

El compuesto de la presente divulgación es un agente inhibidor doble de la PI3K gamma y de la PI3K delta.

- 20 Se pretende que el término "agente inhibidor" tal como se emplea en el presente contexto, se refiera a un compuesto que reduce (por ejemplo en al menos un 50 %) o elimina la actividad biológica de la proteína objetivo, por ejemplo la isozima PI3K delta, en un ensayo enzimático *in vitro*.

Se pretende que el término "agente inhibidor de delta/gamma", tal como se emplea en el presente contexto, se refiere al hecho de que el compuesto inhibe, en un cierto grado, a ambas isoformas de las enzimas aunque no necesariamente en la misma extensión.

- 25 El compuesto de la presente divulgación es activo en unos sistemas de escrutinio que están basados en células y demuestra de esta manera que él posee unas apropiadas propiedades para penetrar en las células y ejercer de esta manera unos efectos farmacológicos intracelulares.

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

- 30 En una forma de realización se proporciona una sal por adición de ácido aceptable farmacéuticamente del compuesto del invento.

Se pretende que las sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, como se mencionan en el presente contexto, comprendan las sales por adición de ácidos no tóxicas, activas terapéuticamente, que el compuesto de la

fórmula (I) es capaz de formar. Estas sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables se pueden obtener de una manera conveniente tratando a la forma de base libre del compuesto de fórmula (I) con dicho ácido apropiado. Unos apropiados ácidos comprenden, por ejemplo, unos ácidos inorgánicos tales como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico y los ácidos sulfúrico y fosfórico y otros similares; o unos ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, los ácidos acético, propanoico, hidroxiaacético, láctico, malónico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, *para*-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *para*-aminosalicílico, pamoico y otros similares.

Unos ejemplos de sales del compuesto (I) incluyen todas las sales farmacéuticamente aceptables, tales como, sin limitación, unas sales por adición de ácidos de unos ácidos inorgánicos tales como unas sales de HCl y de HBr y unas sales por adición de ácidos de unos ácidos orgánicos tales como una sal del ácido metanosulfónico. Otros ejemplos adicionales incluyen unas sales de ácido sulfúrico y unas sales de ácido fosfórico.

En una forma de realización se proporciona el hidrocloruro de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-cloro-bencil)-4-oxo-3,4-dihidro-quinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida.

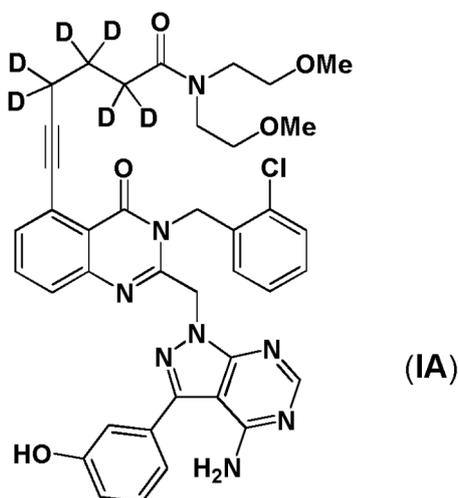
En una forma de realización se proporciona el hidrobromuro de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-cloro-bencil)-4-oxo-3,4-dihidro-quinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida.

En una forma de realización se proporciona el tosilato de 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-cloro-bencil)-4-oxo-3,4-dihidro-quinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida.

La divulgación se extiende también a unos solvatos de los presentes compuestos. Unos ejemplos de solvatos incluyen los hidratos.

Los compuestos de la divulgación incluyen aquellos en donde el átomo especificado es un isótopo que o bien se presenta en la naturaleza o no se presenta en la naturaleza. En una forma de realización, el isótopo es un isótopo estable. De esta manera, los compuestos de divulgación incluyen, por ejemplo, los que contienen uno o más átomos de deuterio en lugar de átomos de hidrógeno y similares.

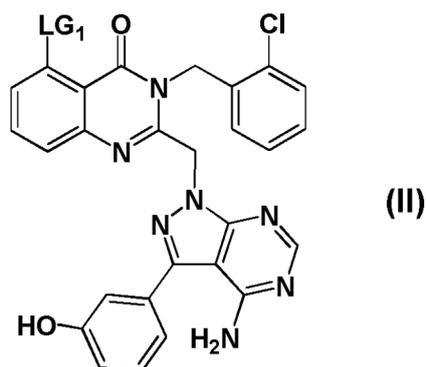
En una forma de realización del invento, en la que el compuesto de fórmula (I) es un compuesto marcado con deuterio, el compuesto marcado isotópicamente es el derivado de hexadeuterio de la fórmula (IA).



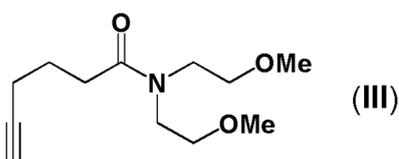
(IA)

La divulgación se extiende también a todas las formas polimórficas de los compuestos que aquí se definen.

El compuesto de fórmula (I) se puede preparar de una manera conveniente por un procedimiento que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II):

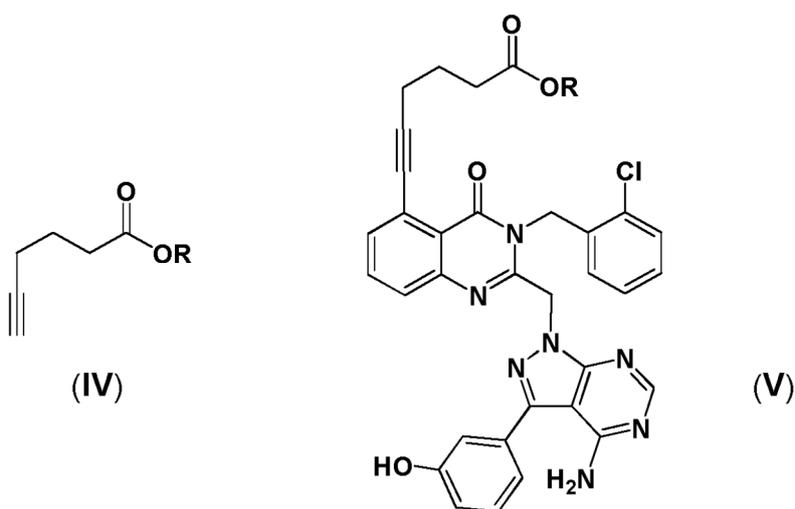


o un derivado protegido del mismo en el que LG_1 representa un grupo lábil tal como halo, en particular bromo, con un compuesto de fórmula (III):



5 en la presencia de un apropiado catalizador y de una base orgánica y en el seno de un disolvente aprótico polar bajo una atmósfera inerte. Unos apropiados catalizadores incluyen unos catalizadores de paladio tales como el dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II), en la presencia del yoduro de cobre, y un apropiado disolvente aprótico polar es la DMF (dimetilformamida). Una apropiada atmósfera inerte es una de nitrógeno.

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

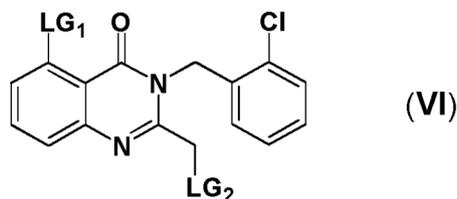


15 en donde R es de manera apropiada H, para proporcionar un compuesto de fórmula (V) o un derivado protegido del mismo. El compuesto de fórmula (I) se obtiene entonces a partir del compuesto de fórmula (V) por una o más transformaciones clásicas de grupos funcionales. Por ejemplo, cuando R es H, el compuesto de fórmula (I) se puede generar a partir del compuesto de fórmula (V) por medio de una reacción de acoplamiento de una amida con una amina, de un modo sumamente apropiado con la bis(2-metoxi-etil)amina.

Para unos procesos de síntesis en los que el compuesto de fórmula (II) es un derivado protegido, el compuesto de fórmula (I) es revelado por una apropiada etapa de desprotección, tal como se conoce bien y se practica en la especialidad. Por ejemplo, cuando el fenol que está presente en el compuesto de fórmula (I) es protegido con un

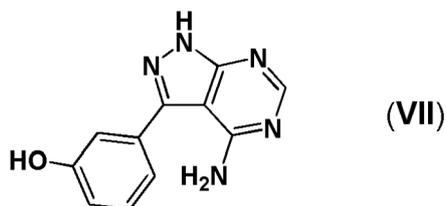
grupo siliilo, por ejemplo con un grupo terc.-butil-dimetil-siilo, la etapa de desprotección se puede efectuar por tratamiento con un reactivo tal como el fluoruro de tetrabutil-amonio en la presencia de un disolvente aprótico polar tal como la DMF. La reacción se puede realizar a una temperatura reducida, tal como una de aproximadamente 0°C.

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



5

o un derivado protegido del mismo, en el que LG₁ es un grupo lábil, tal como se ha definido aquí anteriormente para los compuestos de fórmula (II) y LG₂ es también un grupo lábil tal como el grupo halo, por ejemplo un átomo de un halógeno y apropiadamente uno de cloro, con un compuesto de fórmula (VII):

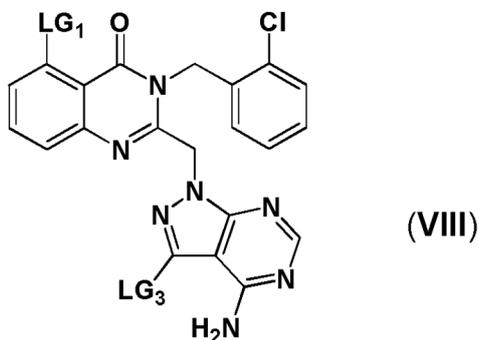


10 o un derivado protegido del mismo, en la presencia de una base y en el seno de un disolvente aprótico polar.

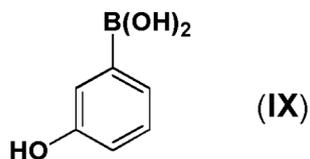
Unas apropiadas bases para esta transformación incluyen el carbonato de potasio y un disolvente aprótico polar apropiado es la DMF.

15 Unos procesos de síntesis incluyen aquellos para los que se estima ventajoso proteger al grupo hidroxilo fenólico del compuesto de fórmula (VII) durante la etapa de acoplamiento, y unos apropiados derivados protegidos incluyen un terc.-butil-dimetil-silil éter y un terc.-butil éter.

Alternativamente, unos compuestos de fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VIII)



20 o un derivado protegido del mismo, en el que LG₁ es como se ha definido anteriormente para unos compuestos de la fórmula (II) y LG₃ representa un grupo lábil tal como un grupo halo, en particular uno de yodo, con un compuesto de fórmula (IX):



o un derivado protegido del mismo, en la presencia de un apropiado catalizador del tipo de un metal noble, de una base inorgánica y de un disolvente prótico polar, bajo una atmósfera inerte; seguido, cuando proceda, por una desprotección.

5 Un apropiado catalizador es el tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0).

Una apropiada base inorgánica es el carbonato de sodio y un apropiado disolvente prótico polar es el etanol.

La reacción se puede realizar a una temperatura elevada, por ejemplo a 85°C durante un extenso período de tiempo tal como, por ejemplo el de 3 días antes de enfriar hasta la RT.

10 Ciertos grupos protectores pueden ser ventajosos para enmascarar a unos grupos que son sensibles químicamente durante una o más de las secuencias de reacción que más arriba se han descrito, con el fin de asegurar que sean eficientes uno o más de los procesos. Así, si se desea o es necesario, unos compuestos intermedios pueden ser protegidos mediante el uso de unos apropiados grupos protectores convencionales. Unos grupos protectores y unos medios para su eliminación se describen en "Protective Groups in Organic Synthesis" [Grupos protectores en síntesis orgánicas] por Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts, publicado por John Wiley & Sons Inc; 4ª edición
15 revisada, 2006, ISBN-10: 0471697540.

Unos nuevos compuestos intermedios son también una parte de la divulgación.

Ventajosamente, los compuestos del presente invento no exhiben una atropisomería.

En un aspecto, el compuesto es útil para el tratamiento, por ejemplo, de una COPD y/o de un asma.

20 Los compuestos de PI3K que se han desarrollado hasta la fecha han sido destinados típicamente para una administración por vía oral. Típicamente, esta estrategia implica la optimización del perfil farmacocinético de un compuesto con el fin de conseguir una duración adecuada de la acción. De esta manera, se establece y mantiene entre dosis una concentración suficientemente alta del fármaco para proporcionar un beneficio clínico continuo. Una consecuencia inevitable y frecuentemente indeseada de este enfoque consiste en que es probable que unos tejidos corporales que no son su objetivo, especialmente el hígado y los intestinos, sean expuestos a unas concentraciones farmacológicamente activas del fármaco.
25

Una estrategia alternativa es la diseñar unos regímenes de tratamiento en los que el fármaco es añadido dosificadamente de un modo directo al órgano inflamado (por ejemplo en una terapia por vía tópica). Aunque este enfoque no es apropiado para tratar a todas las condiciones inflamatorias crónicas, ha sido explotado extensamente para tratar unas enfermedades de los pulmones (un asma, una COPD), unas lesiones cutáneas (una dermatitis atópica y una psoriasis), unas enfermedades nasales (una rinitis alérgica) y unos trastornos gastrointestinales (una colitis ulcerante).
30

En una terapia por vía tópica, la deseada eficacia se puede conseguir algunas veces asegurándose de que el fármaco tenga una duración prolongada de la acción y de que sea retenido predominantemente en el órgano objetivo, reduciendo de este modo al mínimo los riesgos de una toxicidad sistémica. Alternativamente, se puede usar una formulación apropiada que genera un "reservorio" del fármaco activo que entonces está disponible para mantener los deseados efectos. El primer enfoque es dado como ejemplo en el uso del fármaco anticolinérgico bromuro de tiotropio (Spiriva HandiHaler®), que se administra por vía tópica a los pulmones como un tratamiento para una COPD. Este compuesto tiene una afinidad excepcionalmente alta para su receptor objetivo dando como resultado una velocidad de descomposición (= tasa de disociación) muy lenta y una consiguiente duración prolongada de la acción.
35
40

Se proporciona, de acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, el uso del compuesto de fórmula (I) o de una apropiada formulación que se deriva del mismo, como un agente inhibidor de las PI3 cinasas, por ejemplo administrado por vía tópica a los pulmones.

En un aspecto de la divulgación, el compuesto del presente contexto es particularmente apropiado para un suministro por vía tópica tal como un suministro por vía tópica a los pulmones, en particular para el tratamiento de una COPD.

5 Por lo tanto, en un aspecto se proporciona un uso de un compuesto del invento para el tratamiento de una COPD y/o de un asma, en particular de una COPD o de un asma grave, por inhalación, es decir mediante una administración por vía tópica a los pulmones. Ventajosamente, una administración a los pulmones permite que los efectos beneficiosos de los compuestos se desarrollen al mismo tiempo que se reducen al mínimo los efectos colaterales, para los pacientes.

10 En una forma de realización, el compuesto es apropiado para sensibilizar a los pacientes frente a un tratamiento con un corticoesteroide.

El compuesto que se divulga en el presente contexto puede ser útil también para el tratamiento de una artritis reumatoide.

15 Además, el presente invento proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la divulgación, opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Los diluyentes y vehículos pueden incluir los que son apropiados para una administración por las vías parenteral, oral, tópica, mucosal y rectal, y pueden ser diferentes dependiendo de la ruta de administración.

20 En una forma de realización se pueden preparar unas composiciones, p.ej., para una administración por vía parenteral, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intra-articular o peri-articular, particularmente en la forma de unas soluciones o suspensiones líquidas; para una administración por vía oral, particularmente en la forma de tabletas o cápsulas; para una administración por vía tópica, p.ej. por vía pulmonar o intra-nasal, particularmente en la forma de polvos, gotas nasales o aerosoles y para una administración por vía transdérmica, para una administración por vía mucosal, p.ej. a una mucosa bucal, sublingual o vaginal y para una administración por vía rectal, p.ej. en la forma de un supositorio.

25 Las composiciones se pueden administrar convenientemente en una forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por unos cualquiera de los métodos que son bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo tal como se describe en la referencia Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª edición, Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985).

30 Unas formulaciones para la administración por vía parenteral pueden contener como excipientes agua estéril o una solución salina, unos alquilen glicoles tales como el propilen glicol, unos poli(alquilen glicoles) tales como un poli(etilen glicol), unos aceites de origen vegetal, unos naftalenos hidrogenados y otras sustancias similares.

35 Unas formulaciones para la administración por vía nasal pueden ser sólidas y pueden contener unos excipientes, por ejemplo la lactosa o el dextrano, o pueden ser unas soluciones acuosas u oleosas destinadas a su uso en la forma de gotas nasales o de una formulación de pulverización dosificada. Para una administración por vía bucal, los excipientes típicos incluyen unos azúcares, el estearato de calcio, el estearato de magnesio, un almidón previamente gelatinizado, y otras sustancias similares.

40 Las composiciones que son apropiadas para una administración por vía oral pueden comprender uno o más vehículos y/o excipientes fisiológicamente compatibles y pueden estar en una forma sólida o líquida. Unas tabletas y cápsulas se pueden producir con unos agentes aglutinantes, por ejemplo, un jarabe, una goma arábiga, una gelatina, el sorbitol, el tragacanto o una poli(vinilpirrolidona); con unos materiales de relleno tales como la lactosa, la sacarosa, un almidón de maíz, el fosfato de calcio, el sorbitol o la glicina; con unos lubricantes, tales como el estearato de magnesio, un talco, un poli(etilen glicol) o una sílice; y con unos agentes tensioactivos, tales como el lauril sulfato de sodio. Las composiciones líquidas pueden contener unos convencionales aditivos, tales como unos agentes suspendedores, por ejemplo un jarabe de sorbitol, una metil celulosa, un jarabe de azúcar, una gelatina, 45 una carboximetil-celulosa, o unas grasas comestibles; unos agentes emulsionantes, tales como una lecitina, o una goma arábiga; unos aceites vegetales, tales como un aceite de almendras, un aceite de coco, un aceite de hígado de bacalao o un aceite de cacahuete; unos agentes conservantes tales como un hidroxianisol butilado (BHA) y un hidroxitolueno butilado (BHT). Las composiciones líquidas pueden ser encapsuladas en, por ejemplo, una gelatina para proporcionar una forma de dosificación unitaria.

50 Unas formas de dosificación sólidas para la vía oral incluyen tabletas, una cápsulas de envoltura dura de dos piezas y unas cápsulas de gelatina elásticas blandas (SEG = acrónimo de soft elastic gelatin).

- Una formulación de envoltura seca comprende típicamente una concentración de desde aproximadamente 40 % hasta 60 % de una gelatina, aproximadamente una concentración de desde 20 % hasta 30 % de un agente plastificante (tal como el glicerol, el sorbitol o el propilen glicol) y aproximadamente una concentración de desde 30 % hasta 40 % de agua. Pueden estar presentes también otros materiales tales como agentes conservantes, tintes, opacificantes y aromas. El material de relleno líquido comprende un fármaco sólido que ha sido disuelto, solubilizado o dispersado (con unos agentes suspendedores tales como una cera de abejas, un aceite de ricino hidrogenado o un poli(etilen glicol) 4.000), o un fármaco líquido en unos vehículos o unas combinaciones de vehículos tales como un aceite mineral, unos aceites vegetales, unos triglicéridos, unos glicoles, unos polioles y unos agentes con actividad superficial (= tensioactivos).
- Apropiadamente, el compuesto de fórmula (I) se administra por vía tópica a los pulmones. Por lo tanto, en una forma de realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la divulgación, opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos aceptables por vía tópica. Una administración por vía tópica a los pulmones se puede conseguir mediante el uso de una formulación de aerosol. Unas formulaciones de aerosoles comprenden típicamente el ingrediente activo en un estado suspendido o disuelto en un apropiado agente propulsor de aerosoles, tal como un compuesto de cloro, flúor y carbono (CFC) o un compuesto de hidrógeno, flúor y carbono (HFC). Unos apropiados agentes propulsores del tipo de los CFC incluyen el tricloro-monofluoro-metano (agente propulsor 11), el dicloro-tetrafluoro-metano (agente propulsor 114), y el dicloro-difluoro-metano (agente propulsor 12). Unos apropiados agentes propulsores del tipo de los HFC incluyen el tetrafluoro-etano (HFC-134a) y el heptafluoro-propano (HFC-227). El agente propulsor constituye típicamente desde un 40 % hasta un 99,5 % p.ej. desde un 40% hasta un 90 % en peso de la composición para inhalación total. La formulación puede comprender unos excipientes, incluyendo unos disolventes concomitantes (p.ej. el etanol) y unos agentes tensioactivos (p.ej. una lecitina, el trioleato de sorbitán y otras sustancias similares). Las formulaciones de aerosoles se envasan en unos botones de pulverización y una dosis apropiada es suministrada por medio de una válvula dosificadora (p.ej. tal como se suministra por Bepak, Valois o 3M).
- Una administración por vía tópica a los pulmones se puede conseguir también mediante el uso de una formulación no presurizada, tal como una solución o suspensión acuosa. Ésta se puede administrar por medio de un aparato nebulizador. La administración por vía tópica a los pulmones se puede conseguir también mediante el uso de una formulación de polvo seco. Una formulación de polvo seco contendrá el compuesto de la divulgación en una forma finamente dividida, típicamente con un diámetro medio másico (MMAD) de 1-10 μm . La formulación contendrá típicamente un diluyente aceptable por vía tópica tal como una lactosa, usualmente con un gran tamaño de partículas, p.ej. un diámetro medio másico (MMAD) de 100 μm o más. Unos ejemplos de sistemas de suministro de polvos secos incluyen los SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS, SKYEHALER, ACCUHALER y CLICKHALER.
- Apropiadamente, un compuesto del presente invento se proporciona en forma de una formulación de polvo seco reducida a un tamaño de micrómetros, que comprende por ejemplo una lactosa de una calidad apropiada, llenada dentro de un dispositivo tal como el DISKUS.
- Se pretende que el compuesto de acuerdo con la divulgación tenga una actividad terapéutica. En un aspecto adicional el presente invento proporciona un compuesto de la divulgación destinado a su uso como medicamento.
- El compuesto de acuerdo con el invento puede ser útil también en el tratamiento o en la prevención de unos trastornos respiratorios incluyendo una COPD (incluyendo una bronquitis crónica y un enfisema), un asma, un asma pediátrico, una fibrosis quística, una sarcoidosis, una fibrosis pulmonar idiopática, una rinitis alérgica, una rinitis, una sinusitis, especialmente un asma, una bronquitis crónica y una COPD.
- El compuesto de la divulgación puede también volver a sensibilizar la condición de un paciente para un tratamiento con un corticoesteroide, cuando con anterioridad la condición del paciente se haya vuelto refractaria a la misma.
- En una forma de realización del invento, se emplea una dosis del presente compuesto que es idónea para su uso como una monoterapia, pero administrada en combinación con un corticoesteroide.
- En una forma de realización se emplea una dosis del compuesto de fórmula (I) que sería inferior a la terapéutica cuando se emplea un único agente, en combinación con un corticoesteroide, restaurando de este modo la sensibilidad del paciente a este último, en los casos en donde el paciente se hubiera vuelto previamente refractario al mismo.
- Adicionalmente, el compuesto de la divulgación puede exhibir una actividad anti-vírica y demostrar ser útil en el tratamiento de unas exacerbaciones víricas de unas condiciones inflamatorias, tales como un asma y/o una COPD.
- El compuesto de la presente divulgación puede también ser útil en la profilaxia, el tratamiento o el mejoramiento del virus flu, del rinovirus y/o del virus sincitial respiratorio.

Se espera también que el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la divulgación sea útil en el tratamiento o en la prevención de ciertas condiciones que pueden ser tratadas mediante una terapia tópica o local que incluye una conjuntivitis alérgica, una conjuntivitis, una dermatitis alérgica, una dermatitis por contacto, una psoriasis, una colitis ulcerante, unas articulaciones inflamadas secundarias con respecto a una artritis reumatoide o una osteoartritis.

- 5 Se divulga aquí el compuesto de fórmula (I) que es considerado útil en el tratamiento de la hepatitis C y/o del VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) cuando él se administre por una ruta apropiada. Unas apropiadas rutas de administración pueden incluir la oral, una inyección intravenosa o una infusión.

Apropiadamente, un compuesto de la fórmula (I) destinado al tratamiento de la hepatitis C es suministrado a la sangre antes de la entrada en el hígado.

- 10 Se espera también que el compuesto de la divulgación sea útil en el tratamiento de ciertas otras condiciones incluyendo una artritis reumatoide, una pancreatitis, una caquexia, una inhibición del crecimiento y de la metástasis de tumores, que incluye un carcinoma de pulmón de células no pequeñas, un carcinoma, un carcinoma gástrico, unos carcinomas colorrectales y un melanoma maligno.

- 15 En una forma de realización el compuesto presentemente divulgado y las formulaciones farmacéuticas que lo comprenden son útiles en el tratamiento o la prevención de un cáncer, en particular de un cáncer de pulmón, especialmente mediante una administración por vía tópica a los pulmones.

Por lo tanto, en otro aspecto adicional, el presente invento proporciona un compuesto tal como se describe en el presente contexto destinado a su uso en el tratamiento de una o más de las condiciones que más arriba se han mencionado.

- 20 En un aspecto adicional, el presente invento proporciona el uso de un compuesto como aquí se divulga para la producción de un medicamento destinado al tratamiento de una o más de las condiciones que arriba se han mencionado.

- 25 Los compuestos que aquí se describen pueden ser también útiles en la producción de un medicamento destinado al tratamiento de una o más de las enfermedades que arriba se han mencionado. Se pretende que la palabra "tratamiento" abarque una profilaxia así como también un tratamiento terapéutico.

- 30 Un compuesto de la divulgación se puede administrar también en combinación con uno o más otros ingredientes activos, p.ej. unos ingredientes activos que son apropiados para tratar las condiciones más arriba mencionadas. Por ejemplo, unas posibles combinaciones destinadas al tratamiento de trastornos respiratorios incluyen unas combinaciones con esteroides (p.ej. con la budesonida, el dipropionato de beclometasona, el propionato de fluticasona, el furoato de mometasona y el furoato de fluticasona), unos agentes agonistas beta (p.ej. la terbutalina, el salbutamol, el salmeterol, el formoterol y el indacaterol) y/o unas xantinas (p.ej. la teofilina), unos agentes antagonistas muscarínicos (p.ej. el ipratropio) y/o un agente inhibidor de la p38 MAP cinasa.

En una forma de realización un compuesto de la divulgación se administra en combinación con un agente antivírico, por ejemplo el aciclovir, el tamiflú, la relenza o un interferón.

- 35 En una forma de realización la combinación de ingredientes activos se formula concomitantemente.

En una forma de realización un compuesto de la presente divulgación se formula concomitantemente con un corticoesteroide como una formulación para inhalación, por ejemplo destinada a su uso en una terapia de mantenimiento de una COPD o de un cáncer de pulmón incluyendo una prevención de este último. En una forma de realización, la combinación de ingredientes activos es simplemente administrada concomitantemente.

- 40 En una forma de realización, el compuesto de la divulgación se administra por inhalación y un corticoesteroide se administra por vía oral o por inhalación, o bien en combinación o por separado.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Las abreviaturas usadas en el presente contexto se definirán seguidamente (Tabla 1). Se pretende que cualesquiera abreviaturas que no se hayan definido acarrean su significado generalmente aceptado.

Tabla 1: Abreviaturas

aq	acuoso(a)(s)
Ac	acetilo
ATP	adenosina-5'-trifosfato
BALF	fluido de lavado broncoalveolar
br	ancho
BSA	albumina de suero bovino
COPD	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
d	doblete
DCM	diclorometano
DMAP	4-dimetilamino-piridina
DMSO	dimetil sulfóxido
EDC.HCl (ES ⁺)	hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil)carbodiimida ionización por pulverización electrostática, modo positivo
Et	etilo
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
FACS	clasificación de células activada por fluorescencia
FCS	suero de ternero fetal
FP	propionato de fluticasona
g	gramo(s)
HPLC-MS	espectrometría de masas y cromatografía de fase líquida de alto rendimiento
Hr	hora(s)
HRP	peroxidasa de rábano picante
HRV	rinovirus humano
i-n	intra-nasal
i-t	intra-traqueal
IL-8	interleucina 8
µL	microlitros
LPS	lipopolisacáridos
µM	micromolar
M	molar
(M+H) ⁺	ion molecular protonado
MCP-1	proteína quimioatrayente de monocitos
Me	metilo
MeOH	metanol
mg	miligramos
MHz	megahercios
min	minuto(s)
mL	mililitros
mM	milimolar
mmol	milimol(es)
MTT	bromuro de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolio
m/z	relación de la masa a la carga
ng	nanogramos
nM	nanomolar
nm	Nanómetro(s)
NMR	resonancia magnética nuclear (espectroscopia)
OVA	ovoalbúmina
PBS	solución salina tamponada con fosfato
Ph	fenilo
PIP2	4,5-bifosfato de fosfatidilinositol
PIP3	3,4,5-trifosfato de fosfatidilinositol
PMA	acetato miristato de forbol
Po	administración por vía oral
PPh ₃	trifenilfosfina
q	cuartete
quin	quintete
R ^t	tiempo de retención
RT	temperatura ambiente
RP HPLC	cromatografía de fase líquida de alto rendimiento en fase inversa
RSV	virus sincitial respiratorio
S	singlete
SDS	dodecil sulfato de sodio
SEM	error típico de la media

t	Triplete
TMB	3,3',5,5'-tetrametil-bencidina
TNF α	factor de necrosis tumoral alfa
TR-FRET	transferencia de energía por resonancia de la fluorescencia resuelta en el tiempo
vol	Volumen

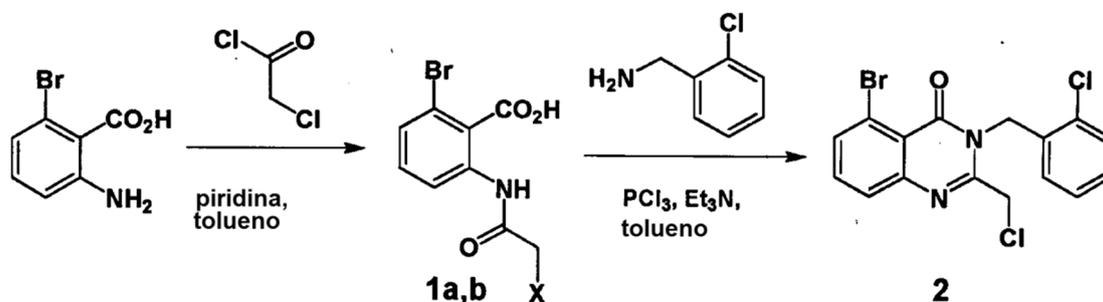
Procesos generales

Todos los materiales de partida y disolventes o bien se obtuvieron a partir de unas fuentes comerciales o se prepararon de acuerdo con la cita bibliográfica. A menos que se señale otra cosa distinta, todas las tandas de reacción fueron sometidas a agitación. Las soluciones orgánicas se secaron rutinariamente sobre sulfato de magnesio anhidro.

La HPLC-MS se realizó en unos sistemas de Agilent HP1200 usando unas columnas con Agilent Extend C18, (1,8 μm , 4,6 x 30 mm) a 40°C y con un caudal de 2,5-4,5 mL min⁻¹, eluyendo con un gradiente de mezclas de H₂O y MeCN, que contiene 0,1 % v/v de ácido fórmico durante 4 min. Información sobre el gradiente: 0-3,00 min, que discurre en rampa desde 95 % de H₂O y 5 % de MeCN hasta 5 % de H₂O y 95 % de MeCN; 3,00-3,01 min, mantenido en 5 % de H₂O y 95 % de MeCN, caudal aumentado a 4,5 mL min⁻¹; 3,01-3,50 min, mantenido en 5 % de H₂O y 95 % de MeCN; 3,50-3,60 min, devuelto a 95 % de H₂O y 5 % de MeCN; caudal reducido a 3,50 mL min⁻¹; 3,60-3,90 min, mantenido en 95 % de H₂O y 5 % de MeCN; 3,90-4,00 min, mantenido en 95 % de H₂O y 5 % de MeCN, caudal reducido a 2,5 mL min⁻¹. La detección por rayos UV se realizó a 254 nm usando un detector de longitud de onda variable Agilent G1314B.

Los espectros de masas se obtuvieron usando una ionización por pulverización electrostática (ES) a lo largo del intervalo de m/z de desde 60 hasta 2.000 con una velocidad de muestreo de 1,6 sec/ciclo usando un Agilent G1956B, a lo largo del intervalo de m/z de desde 150 hasta 850 con una velocidad de muestreo de 2 Hz usando un Waters ZMD o a lo largo del intervalo de m/z de desde 100 hasta 1.000 con una velocidad de muestreo de 2 Hz usando un sistema de LC-MS Shimadzu 2010 Los espectros de ¹H NMR se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz usando un disolvente no deuterado residual como la referencia.

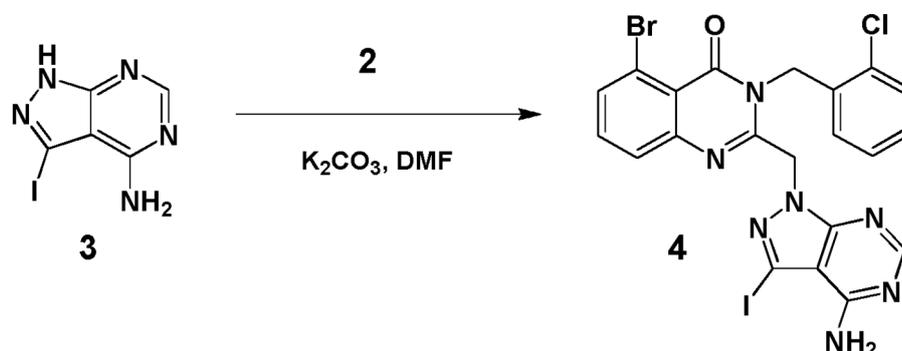
5-Bromo-3-(2-cloro-bencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona.



A una solución sometida a agitación del ácido 2-amino-6-bromo-benzoico (3,06 g, 14,2 mmol) en tolueno (75 mL) enfriada a 0°C en un baño de hielo se le añadió gota a gota piridina (0,60 mL, 7,10 mmol) seguida por una solución de cloruro de cloroacetilo (2,26 mL, 28,4 mmol) en tolueno (75 mL) durante 1 h. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta la RT, y se calentó a 115°C durante 3 h y luego se dejó enfriar hasta la RT. El volumen de disolvente se redujo a la mitad por evaporación en vacío. Después de haber reposado durante una noche, el producto precipitó y se recogió por filtración para proporcionar el ácido 2-bromo-6-(2-cloro-acetamido)benzoico (1a, X = Cl) (1,44 g) como un material sólido de color blanco: m/z 290/292 (M+H)⁺ (ES⁺). El material filtrado se concentró en vacío y el residuo se trituroó con una mezcla de etanol y heptano para proporcionar el ácido 2-bromo-6-(2-hidroxi-acetamido)benzoico (1b X =OH) (1,02 g, rendimiento combinado 59 %): m/z 274/276 (M+H)⁺ (ES⁺). Tanto el compuesto 1a como el 1b se pueden usar sin ninguna purificación ulterior en la siguiente etapa.

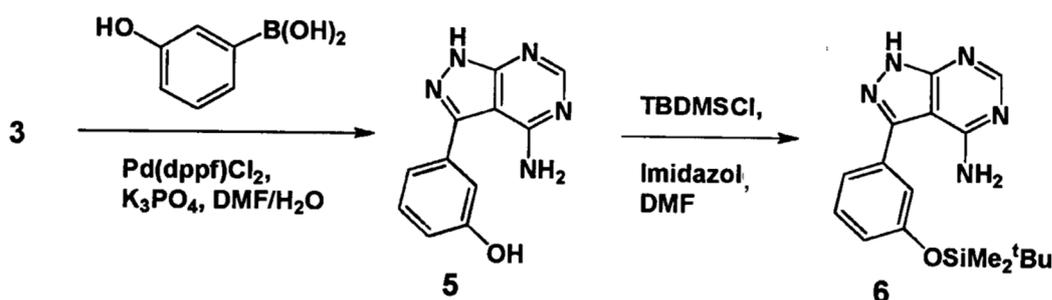
A una mezcla sometida a agitación del compuesto (1a) (7,50 g, 27,4 mmol), se le añadieron 2-cloro-bencilamina (5,00 mL, 41,05 mmol) y trietilamina (5,70 mL, 41,1 mmol) en tolueno (250 mL) se le añadió gota a gota una solución de tricloruro de fósforo (2,60 mL, 30,1 mmol) en tolueno (250 mL) durante 1 h. La mezcla de reacción se calentó a 110°C durante 24 hr, después de lo cual la solución caliente se decantó y concentró en vacío. El residuo se trituroó con propan-2-ol (50 mL) para proporcionar el compuesto del título (2) (6,41 g, 59 %) como un material sólido de color amarillo: R^t 2,67 min; m/z 397/399 (M+H)⁺ (ES⁺).

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



5 A una mezcla sometida a agitación de la 5-bromo-3-(2-cloro-bencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona, (2), (13,6 g, 30,7 mmol) y de la 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (3) (8,09 g, 30,7 mmol) en DMF (se le añadieron 300 mL de carbonato de potasio (6,36 g, 46,0 mmol) y la tanda de reacción se mantuvo a la RT en la oscuridad durante 24 hr. La mezcla se vertió sobre agua (4,0 L) y la resultante suspensión se agitó a la RT durante 1 h. El material precipitado se aisló por filtración y se secó en vacío para proporcionar el compuesto del título, (4), como un material sólido incoloro (18,0 g, 94 %); R^t 2,17 min; m/z 622/624 $[M+H]^+$ (ES⁺).

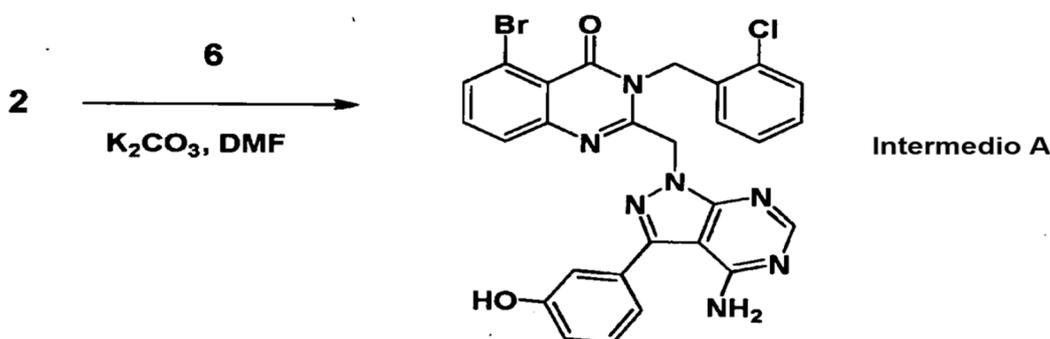
3-(3-(terc.-Butildimetilsililoxi)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina.



10
15
20 A una suspensión sometida a agitación de la 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (3) (8,22 g, 31,5 mmol), del ácido 3-fenol borónico (13,0 g, 94,5 mmol) y del fosfato de potasio (10,0 g, 47,3 mmol) en una mezcla desgasificada de DMF y agua (3:2, 140 mL) se le añadió el [dppf] dicloruro de paladio (II) (13,0 g, 15,7 mmol). La mezcla de reacción se inundó con nitrógeno, se calentó a 120°C durante 2 hr y luego se dejó enfriar hasta la RT. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (500 mL) y con ácido clorhídrico (2 M, 500 mL) y la suspensión resultante se filtró. El material filtrado se extrajo con ácido clorhídrico (2 M, 2 x 500 mL). Los extractos aq combinados se basificaron con una solución aq saturada de carbonato de sodio hasta un pH de 10. El precipitado formado se filtró y el material filtrado se extrajo con EtOAc (3 x 1 L). Los extractos orgánicos combinados se secaron, se filtraron y el disolvente se eliminó en vacío para proporcionar un material sólido de color gris. Todos los materiales sólidos generados durante el proceso de tratamiento se combinaron y trituraron con DCM para proporcionar el 3-(4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenol (5) (6,04 g, 84%) como un material sólido de color gris: m/z 228 $(M+H)^+$ (ES⁺),

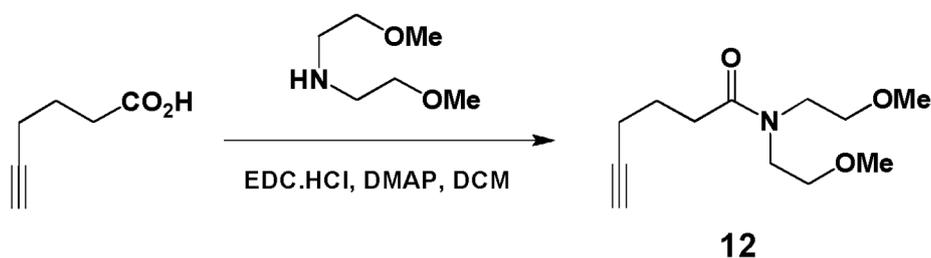
25 A una solución sometida a agitación del fenol (5) (4,69 g, 20,66 mmol) y del imidazol (2,10 g, 30,99 mmol) en DMF seca (100 mL) se le añadió el TBDMSCl (4,70 g, 30,99 mmol). Después de 16 hr, se añadieron unas partes alícuotas adicionales del imidazol (2,10 g, 30,99 mmol) y del TBDMSCl (4,70 g, 30,99 mmol) y la mezcla se agitó durante 48 hr. La mezcla de reacción se diluyó con agua (120 mL) y se extrajo con DCM (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 200 mL), se secaron, se filtraron y el volumen se redujo hasta aproximadamente 100 mL por medio de una evaporación en vacío. La suspensión resultante se filtró y el material sólido se lavó con heptano (50 mL) para proporcionar el compuesto del título (6) (6,05 g, 85%) como un material sólido de color blancuzco: m/z 343 $(M+H)^+$ (ES⁺),

Compuesto intermedio A: 2-((4-Amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-5-bromo-3-(2-cloro-bencil)quinazolin-4(3H)-ona.



5 A una mezcla sometida a agitación de la 5-bromo-3-(2-cloro-bencil)-2-(clorometil)quinazolin-4(3H)-ona (2) (100 mg, 0,25 mmol) y del carbonato de potasio (42 mg, 0,30 mmol) en el seno de DMF (2,5 mL) se le añadió una solución de la 3-(3-(terc.-butildimetilsililo)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-4-amina (6) (94 mg, 0,28 mmol) en DMF (2,5mL) y la
10 mezcla de reacción se agitó a la RT durante 18 hr. Se añadió carbonato de potasio (3 x 35 mg, 0,75 mmol) en tres porciones durante 30 hr, después de lo cual el disolvente se eliminó en vacío y el material en bruto se purificó mediante una cromatografía en columna con evaporación súbita, eluyendo con 4,5 % de metanol en DCM, para proporcionar el compuesto del título, Intermedio A, (94 mg, 64%) como un material sólido de color blancuzco: R^t 2,01 min; m/z 588/590 ($M+H$)⁺, (ES)⁺,

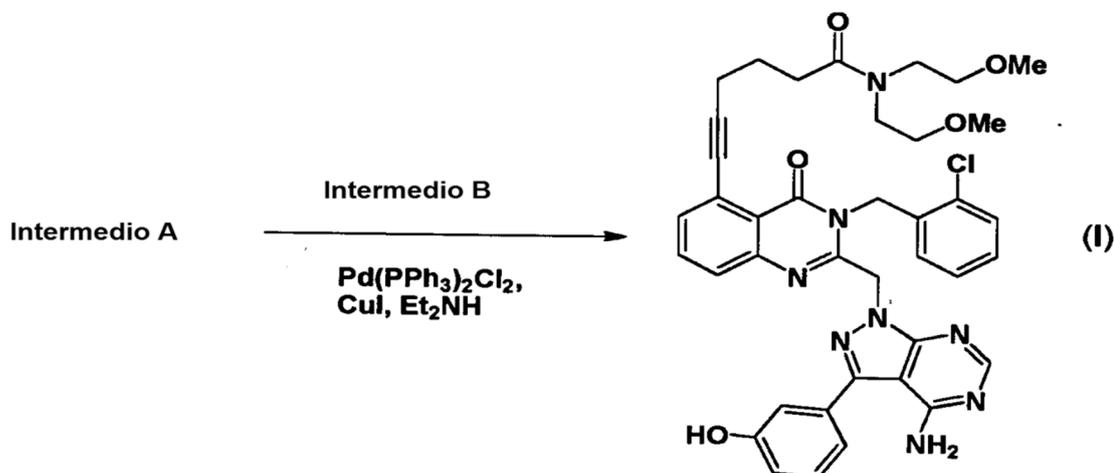
Compuesto intermedio B: N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida.



15 A una solución del ácido hex-5-inoico (7,11 g, 63,4 mmol), del EDC.HCl (14,0 g, 72,9 mmol) y de la DMAP (387 mg, 3,17 mmol) en DCM (600 mL) a 0°C se le añadió la bis(2-metoxi-etil)amina (9,3 mL, 63 mmol). La mezcla resultante se calentó a la RT durante 20 hr y luego se lavó con ácido clorhídrico (1 M, 2 x 500 mL) y agua (500 mL). La capa orgánica se secó y se evaporó en vacío para proporcionar el compuesto del título, Intermedio B, como un aceite de color amarillo (16 g, 97 %): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1,88 (3H, m), 2,26 (2H, m), 2,49 (2H, m), 3,32 (6H, s), 3,51 (4H, m), 3,55 (4H, m).

20

6-(2-((4-Amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-cloro-bencil)-4-oxo-3,4-dihidro-quinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida: Compuesto de Formula (I).



Una mezcla del compuesto Intermedio B (9,11 g, 34,9 mmol), del dicloruro de bis-trifenilfosfina paladio(II) (0,98 g, 1,4 mmol), del compuesto Intermedio A (8,3 g, 14 mmol) y del yoduro de cobre (I) (0,27 g, 1,4 mmol), en dietilamina (400 mL, 3,8 mol) se desgasificó con nitrógeno y luego se agitó a 60°C durante 4 hr y luego se enfrió hasta la RT durante unas 72 hr adicionales. La mezcla se evaporó en vacío y el residuo se repartió entre acetato de amonio aq (500 mL) y EtOAc (500 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con una salmuera (2 x 500 mL) y luego se secó y evaporó en vacío. El residuo se purificó mediante una cromatografía en columna con evaporación súbita, (SiO₂, 120 g, MeOH en DCM, 0-5%, elución con un gradiente) para proporcionar el compuesto del título de fórmula (I), como un material sólido de color blancuzco (6,9 g, 66%): R^t 1,92 min; m/z 735/737 (M+H)⁺ (ES⁺) (método D); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1,70 (2H, quin), 2,46 (2H, t), 2,55 (2H, t), 3,12 (3H, s), 3,19 (3H, s), 3,26 (2H, m solapado), 3,31 (4H, m, parcialmente oscurecido por un pico de HOD), 3,35 (2H, q), 5,30 (2H, s), 5,76 (2H, s), 6,18 (1 H, dd), 6,80 (1 H, dt), 6,85 (1 H ddd), 6,92-6,94 (2H, m solapado), 7,05 (1 H, td), 7,13 (1 H, dd), 7,31 (1 H, t), 7,61 (1 H, dd), 7,68 (1 H, dd), 7,81 (1 H, dd), 8,18 (1 H, br s), 9,65 (1 H, br s).

La complejidad adicional y las consecuencias para el desarrollo de fármacos que resulta de una atropisomería son análogas a las que surgen a partir de otras fuentes de isomería molecular tales como la presencia de un centro estereogénico. Esta propiedad convierte a dichas moléculas tanto en quirales y, a menos que sea resuelta, una mezcla racémica; los componentes de ellas podrían poseer diferentes perfiles farmacológicos. Es probable que esta característica aumente significativamente los costos de revelado corriente abajo para dichas moléculas y la ausencia de una atropisomería en el compuesto de fórmula (I) que aquí se divulga es por lo tanto una propiedad altamente deseable y ventajosa.

Ensayo biológico: Métodos experimentales

Ensayo de inhibición de enzimas

Las PI3 cinasas catalizan la fosforilación del 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP₂) para formar el 3,4,5-trifosfato de fosfatidilinositol (PIP₃) en la presencia de ATP y de iones de Mg²⁺. El producto PIP₃ se puede detectar mediante un desplazamiento del biotina-PIP₃ desde unos compuestos complejos por transferencia de energía que se componen de un anticuerpo monoclonal anti-GST marcado con europio, de un dominio de homología de Pleckstrin (PH) marcado con GST, del PIP₃ biotinilado y de la estreptavidina-alofococianina (APC) mediante la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET) (ensayo enzimático HTRF@PI3K, de Millipore). La excitación (330 nm) de europio en el compuesto complejo da como resultado una transferencia de energía a la APC y una emisión fluorescente a 665 nm aunque el europio propiamente dicho emite a sus 620 nm característicos. El producto PIP₃ formado por la actividad de la PI3K desplaza al biotina-PIP₃ desde el complejo y da como resultado una pérdida de transferencia de energía (señal decreciente).

El compuesto que se había de ensayar se añadió, en las concentraciones finales deseadas, a una mezcla de un sustrato del PIP₂ y unas enzimas PI3 cinasas α, δ o γ recombinantes (de Millipore), y la mezcla se incubó durante 2 hr a la RT. Después de este período de tiempo de incubación, se añadió ATP (20 μM) a la mezcla de la enzima, del compuesto y del sustrato de PIP₂, y la mezcla resultante se incubó durante 30 min a la RT. Se añadieron luego una solución de detención que contenía PIP₃ biotinilado y la mezcla de detección que contenía el dominio de homología de Pleckstrin (PH) de GRP1 marcado con GST y unos fluoróforos, y la mezcla se incubó a la RT durante

15-18 hr, antes de la detección en un aparato lector de microplacas por fluorescencia (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific).

5 Los resultados se calcularon de acuerdo a la fórmula: señal de APC (emisión a 665 nm) / señal de europio:(emisión a 620 nm) x 10⁴. El porcentaje de inhibición de cada reacción se calculó en relación con un testigo tratado con DMSO y luego se calculó la concentración inhibidora del 50 % (valor de la IC₅₀) a partir de la curva de concentración y respuesta.

Ensayo basado en células con PI3K δ

Como un medio de evaluar la activación de la PI3K δ como respuesta a unos estímulos, se determinó el estado de fosforilación de la proteína, Akt, que es un producto situado corriente abajo de la señalización de la PI3K δ.

10 Unas células monocíticas humanas (células U937), se diferenciaron para formar unas células del tipo de macrófagos por incubación con PMA (100 ng/mL) durante 48 hasta 72 hr. Luego las células se incubaron previamente o bien con el compuesto sometido a ensayo o con un vehículo durante 2 hr y luego se estimularon brevemente, mediante una exposición a la acción del H₂O₂ (10 mM; 5-7 min) y la reacción se detuvo reemplazando el medio por una solución de formaldehído al 4 %. La actividad del peróxido endógeno y el formaldehído se desactivaron incubando con un tampón de apagado (0,1 % de aziduro de sodio, 1 % H₂O₂ en una PBS con 0,1 % de Triton X-100) durante 20 min.
15 Las células se lavaron con un tampón (una PBS que contenía 0,1 % de Triton X-100) y se incubaron con una solución de bloqueo (1 % de BSA en PBS) durante 1 hr y luego se lavaron renovadamente con un tampón y se incubaron durante una noche o bien con un anticuerpo anti-pAkt o con un anticuerpo anti-pan-Akt (ambas procedentes de la entidad Cell Signaling Technology). Después de haber lavado con un tampón (una PBS que contenía 0,1 % de Triton X-100), las células se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con HRP (de Dako) y la señal resultante se determinó por medios colorimétricos (OD (= densidad óptica): 450 nm con una longitud de onda de referencia de 655 nm) usando un sustrato de TMB (paquete de sustrato y reactivo suministrado por R&D Systems, Inc.).
20

25 Esta reacción se detuvo mediante la adición de 100 µl de una solución 1 N de H₂SO₄. Luego las células se lavaron con un tampón (PBS que contenía 0,1 % de Triton X-100) y se aplicaron 100 µL de una solución al 5 % de violeta cristal durante 30 min. Después de haber lavado con un tampón (una PBS que contenía 0,1 % de Triton X-100) se añadieron a cada pocillo 100 µL de SDS al 1 % y las placas se agitaron ligeramente durante 1 hr antes de medir la absorbancia a 595 nm (Varioskan® Flash, Thermo-Fisher Scientific). Las lecturas medidas a unas OD₄₅₀₋₆₅₅ se corrigieron en cuanto al número de células dividiendo la OD₄₅₀₋₆₅₅ por las lecturas medidas a la OD₅₉₅. La relación de la señal de pAkt a la señal de Akt total se usó para cuantificar el grado de activación de la PI3K δ. El porcentaje de inhibición para cada pocillo se calculó con relación a 10 µg/mL de un testigo patrón (LY294002) ajustado a una inhibición del 100 % frente a unos testigos con solamente H₂O₂ como una inhibición del 0 %. Los valores de la CI₅₀ se calcularon a partir de las curvas de concentración y respuesta generadas por las diluciones en serie de los compuestos sometidos a ensayo.
30

35 Ensayo basado en células con PI3K γ

Como un medio para evaluar la activación de la PI3K γ como respuesta a unos estímulos, se determinó el estado de fosforilación de la proteína, Akt, que es un producto situado corriente abajo de la señalización de la PI3K γ, se determinó a continuación de una estimulación con MCP-1.

40 Unas células monocíticas humanas (células THP1) se incubaron previamente en un medio RPMI-1640 con FCS al 1 % durante 1 h. luego las células se trataron o bien con el compuesto sometido a ensayo o con el vehículo durante 1 hr y se estimularon brevemente por exposición a MCP-1 (50 nM, 5-7 min; R&D systems, MN, EE.UU.). La reacción se detuvo reemplazando el medio por una solución al 4 % de formaldehído, seguido por una permeabilización usando el IntraPrep™ (de Beckman Coulter, Francia) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las células se lavaron con un tampón de lavado (una PBS que contenía 0,1 % de BSA) y luego se incubaron con anti-fosfo-Akt (n° 9271; Cell Signaling, Danvers, MA, EE.UU.) durante 15 min a la RT. Después de haber lavado con un tampón de lavado, las células se incubaron con un anticuerpo anti-conejo de cabra, conjugado con Pacific blue (de Life Technologies Corp., Carlsbad, CA, EE.UU.) y se determinó el nivel de fluorescencia usando un citómetro de flujo ATTUNE (de Life Technologies Corp.). A partir del histograma, se calculó el porcentaje mínimo de células positivas que había en cada muestra en comparación con un testigo de línea de base y se usó para cuantificar el grado de activación de la PI3K γ. El porcentaje de inhibición para cada pocillo se calculó con relación a 10 µg/mL de un testigo patrón (LY294002) ajustado a una inhibición del 100 % frente a testigos con solamente MCP1 como una inhibición del 0 %. El valor de la IC₅₀ se calculó a partir de las curvas de concentración y respuesta generadas por las diluciones en serie de los compuestos sometidos a ensayo
50

Liberación de IL-8 inducida por un rinovirus

El rinovirus humano RV16 se obtuvo a partir de la American Type Culture Collection (colección americana de cultivos tipo) (Manassas, VA). Unas reservas de almacenamiento del virus se generaron infectando unas células Hela con el HRV hasta que un 80 % de las células fuesen citopáticas. Unas células BEAS2B se infectaron con el HRV a una MOI (multiplicidad de infección) de 5 y se incubaron durante 2 hr a 33°C con suave sacudimiento para favorecer a la absorción. Luego las células se lavaron con una PBS, se añadieron unos medios de nueva aportación y las células se incubaron durante otras 72 hr. El material sobrenadante se recogió para el ensayo de las concentraciones de IL-8 usando un estuche de revelado Duoset ELISA (de R&D systems, Minneapolis, MN).

Carga In vitro con el virus RSV en células epiteliales bronquiales primarias.

Unas NHBE (acrónimo de normal human bronchial epithelial cells = células epiteliales bronquiales humanas normales) que habían crecido en placas de 96 pocillos, se infectaron con el RSV A2 (cepa A2, HPA, Salisbury, RU (Reino Unido); a una MOI de 0,001) en una mezcla de los medios LHC8 y RPMI-1640 (50:50) que contenía 15 mM de cloruro de magnesio y se incubaron durante 1 hr a 37°C para la adsorción. Luego las células se lavaron con una PBS, se añadieron unos medios de nueva aportación y las células se incubaron durante 4 días. Cuando procediese, las células se incubaron previamente con el compuesto sometido a ensayo o con el DMSO durante 2 hr, y luego se añadieron de nuevo después de haber separado por lavado el virus.

Las células se fijaron con 4 % de formaldehído en una solución de PBS durante 20 min, se lavaron con un tampón de lavado (una PBS que incluía 0,5 % de BSA y 0,05 % de Tween-20) y se incubaron con una solución de bloqueo (con 5 % de leche condensada en una PBS) durante 1 hr. Luego las células se lavaron con un tampón de lavado y se incubaron durante 1 hr a la RT con un anticuerpo anti-proteína de fusión RSV (2F7) F (monoclonal en ratón; lote 798760, n° de catálogo ab43812, Abcam). Después de haber lavado, las células se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con HRP (lote 00053170, n° de catálogo P0447, Dako) y luego se añadió el sustrato TMB (paquete de sustrato y reactivo lote 269472, n° de catálogo DY999, de R&D Systems, Inc.). Esta reacción se detuvo mediante la adición de H₂SO₄ 2 N (50 µL) y la señal resultante se determinó por medios colorimétricos (con la OD: 450 nm con una longitud de onda de referencia de 655 nm) en un aparato lector de microplacas (Varioskan® Flash, ThermoFisher Scientific). Luego las células se lavaron y se aplicó durante 30 min una solución al 2,5 % de violeta cristal (lote 8656, n° de catálogo PL7000, de Pro-Lab Diagnostics). Después de haber lavado con un tampón de lavado se añadieron 100 µL de SDS al 1 % a cada pocillo y las placas se agitaron ligeramente sobre el dispositivo sacudidor durante 1 hr antes de leer la absorbancia a 595 nm. Las lecturas con las OD₄₅₀₋₆₅₅ que se habían medido se corrigieron para el número de células por división de la OD₄₅₀₋₆₅₅ por las lecturas con la OD₅₉₅. Se calculó el porcentaje de inhibición para cada pocillo y se calculó el valor de la IC₅₀ a partir de la curva de concentración y respuesta generada por las diluciones en serie del compuesto.

Ensayo con MTT

Unas células U937 diferenciadas con PMA se incubaron previamente con un compuesto sometido a ensayo durante 4 hr en FCS al 5 % o en FCS al 10% durante 24 hr. El material sobrenadante se reemplazó con 200 µL de medio nuevo y se añadieron a cada pocillo 10 µL de una solución de reserva de MTT (5 mg/mL). Después de una incubación durante 1 hr los medios se eliminaron, se añadieron 200 µL de DMSO a cada pocillo y las placas se agitaron ligeramente durante 1 hr antes de leer la absorbancia a 550 nm. La pérdida porcentual de viabilidad de las células se calculó para cada pocillo en relación con el tratamiento con un vehículo (DMSO al 0,5 %).

40 **Escrutinio in vivo: Farmacodinámica y actividad anti-inflamatoria**

Acumulación de eosinófilos y neutrófilos nasales inducida por ovoalbúmina en ratones

Unos ratones BALB/c (con una edad de 6-8 semanas) se inmunizaron con OVA (40 µg/kg i.p.) en los días 1 y 5. Con el fin de provocar unas respuestas inflamatorias locales en la nariz, los animales fueron desafiados repetidamente por vía intra-nasal (10 µL por cada fosa nasal) en los días 12-19 con OVA (3 % de OVA en una solución salina). En el día 19 unos ratones que no estaban en ayunas recibieron dosificando por vía intra-nasal (a razón de 10 µL/fosa nasal) o bien el vehículo o el compuesto sometido a ensayo a T = - 2 hr en relación con el comienzo del desafío final con OVA. A T = 0, cada animal recibió un desafío intra-nasal final con OVA (3 %). Después de otras 8 hr, cada animal se anestesió y se llevó a cabo un lavado nasal instilando 1 mL de una PBS en las ventanas posteriores a través de una cánula traqueal implantada rostralmente que se extendía hasta una posición que estaba aproximadamente 1 mm delante de las ventanas nasales posteriores. Este proceso se repitió para proporcionar un rendimiento de aproximadamente 2 mL del fluido de lavado. Los números totales de células en las muestras de fluido de lavado nasal se midieron usando un hemocitómetro. Unos frotos con Cytospin de las muestras de fluido de lavado nasal se prepararon por centrifugación a 1.200 rpm (revoluciones por minuto) durante 2 min a la RT y se tiñeron usando un sistema de tinción con DiffQuik (de Dade Behring) para realizar unos cálculos diferenciales de

células. Las células se recontaron usando un microscopio con inmersión en aceite. Los datos se expresan como el número diferencial de células por mL de fluido de lavado nasal, valor medio ± S.E.M (error típico de la media).

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

5 A unos ratones A/J específicos exentos de patógenos (machos, con una edad de 5 semanas) se les administró un poli(I:C)-LMW (poli-IC; 1 mg/mL, 40 µL, en; InvivoGen, San Diego, CA, EE.UU.) por vía intra-nasal dos veces por día durante 3 días mediando anestesia con 3 % de isoflurano. Las sustancias sometidas a ensayo se administraron por vía intra-nasal (35 µL de una solución en una mezcla de DMSO y PBS al 50 %) 2 hr antes de cada tratamiento con un poli-I:C. Veinticuatro hr después del último desafío con un poli-I:C los animales se anestesiaron, la tráquea se canuló y se recogió el BALF. Las concentraciones de macrófagos y neutrófilos alveolares en el BALF se determinaron mediante un análisis con FACS (EPICS® ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, EE.UU.) usando un anticuerpo MOMA2 anti-ratón (macrófagos) o un anticuerpo 7/4 anti-ratón (neutrófilos).

Modelo de humo de cigarrillos

15 Unos ratones A/J (machos, con una edad de 5 semanas se expusieron al humo de cigarrillos) (humo de cigarrillos al 4 %, diluido con aire comprimido) durante 30 min/día durante 11 días usando un sistema de experimentos de inhalación de humo de tabaco para animales pequeños (modelo SIS-CS; de Sibata Scientific Technology, Tokyo, Japón). Las sustancias sometidas a ensayo se administraron por vía intra-nasal (35 µL de una solución en una mezcla de DMSO y PBS al 50 %) y de una manera terapéutica dos veces por día durante 3 días después de la exposición final al humo de cigarrillos. A las doce hr después de la última adición dosificada, los animales se anestesiaron, la tráquea se canuló y se recogió el fluido de lavado broncoalveolar (BALF). Los números de macrófagos y neutrófilos alveolares se determinaron mediante un análisis FACS (EPICS® ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, EE.UU.) usando un anticuerpo MOMA2 anti-ratón (macrófagos) o un anticuerpo 7/4 anti-ratón (neutrófilos).

Resumen de los resultados de escrutinio in vitro e in vivo

25 El perfil in vitro del compuesto de fórmula (I) que aquí se divulga, tal como se determinó usando los métodos más arriba descritos, se presenta seguidamente (en las Tablas 2 y 3). El compuesto del presente invento demuestra una potente inhibición de ambas isoformas δ y γ de la PI3 cinasa y muestra en unos ensayos con enzimas una actividad inhibidora solamente modesta frente a la PI3 cinasa α. Estos efectos se traducen en una potente inhibición de la fosforilación de la Akt inducida por medio de la estimulación o bien con peróxido de hidrógeno o con MCP-1 así como en una actividad inhibidora frente a la liberación de la IL-8 inducida por HRV y en una expresión de la proteína F inducida por RSV en células epiteliales. No se detectaron efectos sobre la viabilidad de las células, que resultó de una incubación con el compuesto de fórmula (I).

Tabla 2: Efectos del compuesto de fórmula (I) sobre las isoformas de la PI3K; sobre la fosforilación celular inducida por peróxido de hidrógeno o por MCP-1 y sobre la viabilidad de las células

Inhibición de la PI3 cinasa			Actividad celular		Viabilidad de las células	
Valor de la IC ₅₀ con la cantidad señalada de isozima (nM)			Valores de la IC ₅₀ para la inhibición de la fosforilación de Akt inducida		Ensayo MTT en células d-U937 ^a	
δ	γ	α	Estímulo con H ₂ O ₂ en células d-U937	Estímulo con MCP-1 en células THP1	a las 4 hr	a las 24 hr
12	25	193	1,1	46 ^b	-ve	-ve

35 a) -ve indica un valor de inhibición < 30 %; b) el valor de la IC₅₀ calculado por regresión lineal

Tabla 3: Efectos del compuesto de fórmula (I) sobre la liberación de la IL-8 inducida por HRV y sobre la expresión de la proteína F inducida por un RSV

Liberación de la IL-8 inducida por un HRV16 en células BEAS2B (% de inhibición)	Expresión de la proteína F por RSV en células epiteliales bronquiales: valor de la IC ₅₀ (nM)
78 % (a razón de 0,1 µg/mL)	389

40 Se encontró que el tratamiento de ratones por vía intra-nasal en el compuesto que aquí se divulga produce una inhibición dependiente de la dosis de la acumulación tanto de eosinófilos como de neutrófilos en un lavado nasal a continuación de un desafío con alérgenos (Tabla 4)

Tabla 4: Los efectos de un tratamiento con el compuesto de fórmula (I) sobre la eosinofilia y la neutrofilia de las vías respiratorias inducida por OVA en ratones

Compuesto (I) (mg/mL)	Números de células en un fluido de lavado nasal ($\times 10^5$ /mL) y (% de inhibición)	
	Eosinófilos	Neutrófilos
Vehículo	1,51 \pm 0,22	0,34 \pm 0,06
0,05	1,13 \pm 0,16 (25)	0,27 \pm 0,04 (21)
0,2	0,57 \pm 0,14 (62)	0,15 \pm 0,04 (56)

N = 8 por grupo

5 Se investigó asimismo el efecto de un tratamiento con el compuesto del presente invento sobre la acumulación de macrófagos y neutrófilos en un BALF a continuación de una exposición de los ratones a un poli-I:C. Se encontró que un tratamiento con el compuesto de fórmula (I) produce una inhibición dependiente de la dosis de la acumulación de macrófagos y neutrófilos inducida por un poli-I:C en un BALF (Tabla 5).

Tabla 5: Los efectos de un tratamiento con el compuesto de fórmula (I) sobre la acumulación de células inducida por un poli-I:C en las vías respiratorias de los ratones

Tratamiento y dosis del compuesto de fórmula (I) (mg/mL)	Números de células en un BAL $\times 10^4$ /mL (inhibición en %)	
	Macrófagos	Neutrófilos
Vehículo	5,0 \pm 0,90	3,0 \pm 0,55
Vehículo + poli I:C	16,7 \pm 1,6	11,8 \pm 0,3
Poli I:C + (I) (0,002)	13,8 \pm 0,48 (25)	10,8 \pm 0,59 (11)
Poli I:C + (I) (0,02)	12,2 \pm 0,29 (38)	9,4 \pm 0,26 (27)
Poli I:C + (I) (0,2)	9,4 \pm 0,75 (61)	7,9 \pm 0,74 (44)
Poli I:C + (I) (2)	6,4 \pm 1,2 (88)	5,6 \pm 0,66 (70)

10 Los datos acerca de los números de células se muestran como el valor medio \pm SEM, N = 5

Se determinaron los efectos de un tratamiento con el compuesto de fórmula (I) sobre la acumulación de macrófagos y neutrófilos en un BALF a continuación de una exposición al humo de cigarrillos (Tabla 6). El modelo de humo de cigarrillos que se usó para este estudio se informa en

15 **Tabla 6:** El efecto de un tratamiento con el compuesto de fórmula (I) \pm el propionato de fluticasona sobre la acumulación de células inducida por el humo de cigarrillos en un BALF murino.

Tratamiento ^a y dosis del compuesto de fórmula (I) (Mg/mL)	Números de células en un BAL $\times 10^4$ /mL ^b (inhibición en %)	
	Macrófagos	Neutrófilos
Aire + vehículo (0)	3,9 \pm 0,75	2,3 \pm 0,33
T + vehículo (0)	20,1 \pm 1,3	18,3 \pm 2,2
T + (I) (20)	14,9 \pm 0,65 (32)	13,0 \pm 0,55 (33)
T + (I) (200)	10,6 \pm 0,02 (59)	10,2 \pm 0,83 (51)
T + (I) (2000)	7,2 \pm 0,40 (80)	6,5 \pm 0,55 (91)
T + (I) (2) + FP	13,7 \pm 0,63 (40)	12,4 \pm 1,0 (37)
T + (I) (20) + FP	10,1 \pm 0,70 (62)	8,3 \pm 0,72 (63)
T + (I) (200) + FP	5,8 \pm 0,48 (90)	4,5 \pm 0,49 (86)

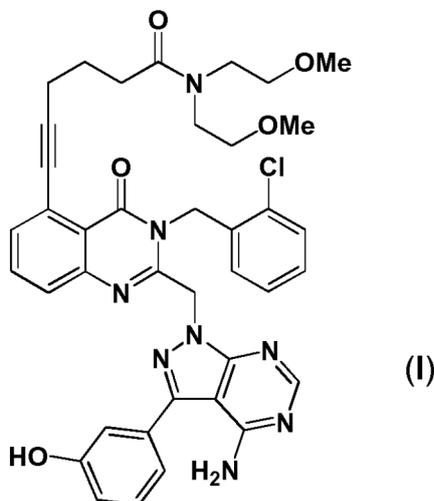
a) T = humo de tabaco, FP = propionato de fluticasona añadido dosificadamente a razón de 50 μ g/mL;b) Los datos acerca de los números de células se muestran como el valor medio \pm SEM, N = 5.

20 Sistema refractario a los corticoesteroides [To, Y. y colaboradores, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **2010**, 182:897-904; Medicherla, S. y colaboradores, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, 324:921-9] y los datos revelan que la dexametasona (0,3-10 mg/kg, p.o.) era inactiva, tal como se preveía. Los efectos de un tratamiento con el compuesto de fórmula (I) sobre los neutrófilos en un BALF y sobre los números de macrófagos alveolares activados, demuestran que éste posee una actividad antiinflamatoria cuando se administra como una monoterapia. Más aun, cuando el compuesto de la presente divulgación se administró concomitantemente con el propionato de fluticasona en una dosis que carecía de cualquier efecto significativo como una monoterapia, se detectó una marcada
25 intensificación de la actividad antiinflamatoria.

- En resumen, el compuesto del invento es un potente agente inhibidor de las isoformas tanto δ como γ de la PI3 cinasa. El perfil in vitro se traduce en un amplio fenotipo antiinflamatorio in vivo. En este conjunto, son notables los efectos inhibidores del compuesto aquí divulgado frente a una acumulación de células inducida por un poli I:C en las vías respiratorias. Es también particularmente llamativo el hecho de que, a diferencia de unos agentes inhibidores selectivos de la PI3 cinasa δ , un tratamiento con el compuesto que aquí se divulga a solas, da como resultado una marcada inhibición de la inflamación de las vías respiratorias inducida por el humo de cigarrillos y que estos efectos se presentan en unas dosis más bajas cuando éste se administra concomitantemente junto con un corticoesteroide, el propionato de fluticasona en unas condiciones en las que carece de efecto un tratamiento con el corticoesteroide a solas.
- 5
- 10 A lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa distinta, se entenderá que la palabra “comprende” y unas variaciones tales como “comprenden” y “comprendiendo” implica la inclusión de un elemento integral especificado, una etapa, un grupo de elementos integrales, un grupo de etapas pero no la exclusión de cualquier otro elemento integral, etapa, grupos de elementos integrales o grupos de etapas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



5 es decir la 6-(2-((4-amino-3-(3-hidroxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)-3-(2-cloro-bencil)-4-oxo-3,4-dihidro-quinazolin-5-il)-N,N-bis(2-metoxi-etil)hex-5-inamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, incluyendo a todos los estereoisómeros, tautómeros y derivados isotópicos de la misma.

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

10 3. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 2, para su uso como un medicamento.

4. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, o de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para su uso en el tratamiento o la prevención de una condición que se selecciona entre:
 15 una COPD (incluyendo una bronquitis crónica y un enfisema), un asma, un asma pediátrico, una fibrosis cística, una sarcoidosis, una fibrosis pulmonar idiopática, una rinitis alérgica, una rinitis, una sinusitis, una conjuntivitis alérgica, una conjuntivitis, una dermatitis alérgica, una dermatitis por contacto, una psoriasis, una colitis ulcerante, unas articulaciones inflamadas de modo secundario para una artritis reumatoide o una osteoartritis, una artritis reumatoide, una pancreatitis, una caquexia, una inhibición del crecimiento y de la metástasis de tumores incluyendo un carcinoma de pulmón de células no pequeñas, un carcinoma de mama, un carcinoma gástrico, unos carcinomas colorrectales y un melanoma maligno.

20 5. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento o la prevención de un trastorno respiratorio.

6. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, en combinación con uno o más otros ingredientes activos.

25 7. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con uno o más otros ingredientes activos que se seleccionan entre los esteroides, los agonistas beta, las xantinas, los agentes antagonistas muscarínicos y los agentes inhibidores de la p38 MAP cinasa.

8. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con un esteroide que se selecciona entre la budesonida, el dipropionato de beclometasona, el propionato de fluticasona, el furoato de mometasona y el furoato de fluticasona.

30 9. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con un agente agonista beta seleccionado entre la terbutalina, el salbutamol, el salmeterol, el formoterol y el indacaterol.

10. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con una xantina, en donde la xantina es la teofilina.

11. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con un agente antagonista muscarínico en donde el agente antagonista muscarínico es el ipratropio.
12. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en combinación con un agente inhibidor de la p38 MAP cinasa.
- 5 13. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en combinación con un agente antivírico.
14. Un compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en combinación con un agente antivírico que se selecciona entre el aciclovir, el tamiflú, la relenza y un interferón.
- 10 15. Uso de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o de una formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para la producción de un medicamento destinado al tratamiento o a la prevención de una condición que se selecciona entre:
- 15 una COPD (incluyendo una bronquitis crónica y un enfisema), un asma, un asma pediátrico, una fibrosis cística, una sarcoidosis, una fibrosis pulmonar idiopática, una rinitis alérgica, una rinitis, una sinusitis, una conjuntivitis alérgica, una conjuntivitis, una dermatitis alérgica, una dermatitis por contacto, una psoriasis, una colitis ulcerante, unas articulaciones inflamadas de modo secundario para una artritis reumatoide o una osteoartritis, una artritis reumatoide, una pancreatitis, una caquexia, una inhibición del crecimiento y de la metástasis de tumores incluyendo un carcinoma de pulmón de células no pequeñas, un carcinoma de mama, un carcinoma gástrico, unos carcinomas colorrectales y un melanoma maligno.,