



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 269 994**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03712535 .8**

86 Fecha de presentación : **26.02.2003**

87 Número de publicación de la solicitud: **1478380**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **24.11.2004**

54 Título: **Utilización de inhibidores de la tirosina quinasa, para el tratamiento de los trastornos del SNC.**

30 Prioridad: **27.02.2002 US 359652 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.04.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.04.2007**

73 Titular/es: **AB. Science**  
**3, avenue George V**  
**75008 Paris, FR**

72 Inventor/es: **Moussy, Alain y**  
**Kinet, Jean-Pierre**

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 269 994 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

Utilización de inhibidores de la tirosina quinasa, para el tratamiento de los trastornos del SNC.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento de los trastornos del SNC, más particularmente los seleccionados de entre el grupo constituido por depresión, esquizofrenia, ansiedad, migraña, pérdida de memoria, dolor y enfermedades neurodegenerativas, que comprende la administración de un compuesto capaz de agotar los mastocitos en un ser humano necesitado de tal tratamiento. Tales compuestos se pueden seleccionar de entre los inhibidores de la tirosina quinasa y más particularmente los inhibidores de c-kit potentes, selectivos y no tóxicos.  
10 Preferentemente, dicho inhibidor es incapaz de promocionar la muerte de las células dependientes de la IL-3 cultivadas en presencia de IL-3.

Las neuronas propagan las señales en forma de potenciales de acción a lo largo de los axones hacia otras neuronas o células efectoras. Muchas señales positivas y negativas se intercambian entre neuronas y se integran para generar un patrón significativo disparos. La comunicación entre dos neuronas se basa en la acción de múltiples neurotransmisores sobre receptores específicos situados en las sinapsis. La perturbación de la regulación de la neurotransmisión es responsable de las enfermedades neurológicas y psiquiátricas. Además, la actividad de los neurotransmisores sobre sus respectivos receptores normalmente está limitada en el tiempo de modo que los receptores pueden responder repetidamente a las siguientes ondas de estímulos. Con respecto a esto, existen diversos mecanismos que impiden la acción de los neurotransmisores: pueden ser bombeados de vuelta en las terminaciones nerviosas presinápticas mediante procesos activos (readmisión), pueden ser destruidos mediante enzimas o simplemente pueden difundirse en la zona circundante.

Según "The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Section 14, Neurologic Disorders", los cambios en la síntesis de neurotransmisores, su almacenamiento, liberación o degradación o los cambios en el número y la afinidad de los receptores pueden afectar la neurotransmisión y producir trastornos clínicos.

Entre los neurotransmisores, se pueden citar el glutamato y el aspartato, que son los principales neurotransmisores excitatorios, mientras que el ácido aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio en el cerebro. Sin embargo, la primera teoría sobre la depresión se refirió al sistema noradrenérgico (NS) [Shildkraut J., *et al.*, *Am. J. Psychiat.* 122:509-522 (1965)]. A continuación se observó que los compuestos tricíclicos (ADT) y los inhibidores de la monoamina-oxidasa modificaban los niveles de la noradrenalina. Más adelante, en el 1978, Sulser F. *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* 27:257-261 demostraron que dichos antidepresivos generaban una disminución en el número de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos postsinápticos. Por consiguiente, se pensó que la depresión era debida a la desregulación de los estímulos presinápticos noradrenérgicos así como también de los receptores postsinápticos [Siever L.J. *et al.*, *Am. J. Psychiat.* 142:1017-1031 (1985)]. En el 1986, Rasmussen *et al.*, [*Brain Res.* 385:395-400 (1986)] demostraron la presencia de receptores de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) en las neuronas NA. En Sugrue M.F. *et al.*, [*Pharmacol. Ther.* 13:219-247 (1981)] se demostró que el tratamiento con ADT provocaba también la regulación negativa de los receptores 5-HT<sub>2</sub>. Como consecuencia, parece que el sistema de NA y el de 5-HT tienen una función crucial en la regulación del estado de ánimo y el comportamiento.

En los noventa, la investigación se enfocó en el descubrimiento de inhibidores específicos de la readmisión de la serotonina (SSRI), tales como la fluoxetina, parxetina o sertralina [Pinder R.M. *et al.*, *Med. Res. Rev.* 13:259-325 (1993)]. Los niveles de serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT) se controlan mediante la readmisión de triptófano y la actividad monoamina-oxidasa intraneuronal.

Entretanto, se observó una disminución del nivel de HVA, la principal catabolito de la dopamina (DA), en los pacientes deprimidos [Kapur S. *et al.*, *Biol. Psychiat.* 32:1-17 (1992)]. También se demostró que el GABA estaba implicado en la fisiopatología de la depresión ya que (i) los pacientes unipolares mostraban niveles inferiores de GABA, (ii) algunos antidepresivos inducen la liberación de GABA *in vivo* y (iii) los agonistas de los receptores de GABA tienen efectos antidepresivos [Lloyd K.G. *et al.*, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 13:341-351 (1989)].

Más recientemente, se ha descrito que otros factores pueden estar implicados en los trastornos del SNC. Por ejemplo, se ha observado que entre el 30 y el 70% de los pacientes afligidos con melancolía presentan niveles elevados de cortisol plasmático y se escapan en el ensayo con dexametasona descrito por Caroll B.J. *et al.*, *Arch. Gen. Psychiat.* 38:15 (1981).

Además, los corticosteroides modifican (i) la expresión de los receptores serotoninérgicos y (ii) la actividad de la triptofano hidroxilasa, que es el enzima clave en la síntesis de 5-HT [Biegon A., *Ann. NY Acad. Sci.* 600:427-431 (1990)].

En lo que respecta a la depresión postparto o postmenopausia, la administración repetida de estrógeno induce una regulación negativa de los receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> [Munemura M. *et al.*, *Endocrinology* 124:346-355 (1989) y Roy E.J. *et al.*, *Brain Res. Bull.* 25:221-227 (1990)].

Entre otros neurotransmisores se incluye la bien conocida acetilcolina, norepinefrina que interactúa con los receptores adrenérgicos y que está regulada por la tirosina hidroxilasa y la monoamina oxidasa, endorfinas, que son

polipéptidos que actúan sobre muchas neuronas centrales e interactúa con los receptores opioides, encefalinas, dinorfinas, histamina, vasopresina, péptido intestinal vasoactivo, carnosita, bradiquinina, colecistoquinina, bombesina, somatostatina, factor de liberación de corticotropina, neurotensina y adenosina.

5 Tal como se mencionó anteriormente, cualquier desequilibrio en estos neurotransmisores o cualquier desregulación de los receptores asociados puede resultar en el desarrollo de trastornos del SNC, desde enfermedades psiquiátricas a migrañas, dolor, pérdida de memoria y degeneración de las células nerviosas.

Hasta el momento, los tratamientos disponibles incluyen los inhibidores de la readmisión de la serotonina (SSRIs) 10 tales como la fluoxetina, sertralina, paroxetina y fluvoxamina. Otros compuestos incluyen la nefazodona que bloquea el receptor de 5-HT<sub>2</sub> e inhibe la readmisión de 5-HT y de norepinefrina, trazodona que es un bloqueador del receptor de 5-HT<sub>2</sub> y un bloqueador 1-noradrenérgico, la mirtazapina que bloquea los receptores 2-adrenérgicos así como también los receptores de 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y H<sub>1</sub>, los compuestos tricíclicos tales como la imipramina y la desipramina, los 15 compuestos tetracíclicos que incrementan el nivel de norepinefrina libre y de 5-HT y los inhibidores de la monoaminooxidasa (MAOI) que inhiben la desaminación oxidativa de la norepinefrina, la dopamina y 5-HT. También se pueden citar los antidepresivos de litio para el tratamiento de los trastornos bipolares.

Sin embargo, tales compuestos solamente son efectivos en aproximadamente el 65% de los pacientes de depresión, lo que implica que existe una gran población afligida de “depresión-refractaria”. En algunos casos, la vida del paciente 20 está en peligro, ya que son necesarias la hospitalización y la terapia electroconvulsiva. Ello muestra la seriedad de estos trastornos. Además, los compuestos anteriormente mencionados muestran numerosos efectos secundarios tales como la taquicardia, la sedación y el aumento de peso.

La esquizofrenia también es un trastorno mental grave que aflige a aproximadamente al 1% de la población en los 25 países occidentales. Los fármacos antipsicóticos (neurolépticos) incluyen la clorpromacina y el aloperidol que muestran afinidad por el receptor 2 de la dopamina. Pero, se han observado frecuentemente efectos secundarios adversos tales como la sedación, distonía, temblores y akatisia y un porcentaje significativo de los pacientes no responde al tratamiento.

30 Por consiguiente, el problema es encontrar soluciones alternativas para proporcionar alivio y curación a los numerosos pacientes afligidos de tales enfermedades.

En relación con la presente invención, se propone que los mastocitos están implicados en, o contribuyen a, los 35 trastornos del SNC. Los mastocitos (MC) son elementos tisulares derivados de un subconjunto particular de células progenitoras hematopoyéticas que expresan los antígenos CD34, c-kit y CD13 [Kirshenbaum *et al.*, *Blood*, 94:2333-2342 (1999) y Ishizaka *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 5:937-43 (1993)]. Los progenitores MC inmaduros circulan por la corriente sanguínea y se diferencian en los tejidos. Dichos procesos de proliferación y diferenciación están influenciados por las citoquinas, una de gran importancia es el Factor de Células Progenitoras (SCF), también conocido como ligando Kit (KL), factor Steel (SL) o Factor de Crecimiento de los Mastocitos (MCGF). El receptor SCF está 40 codificado por el protooncogen c-kit, que pertenece a la subfamilia de receptores de tirosina quinasa tipo III [Boissan and Arock, *J. Leukoc. Biol.*, 67:135-48 (2000)]. Este receptor también se expresa en otras células hematopoyéticas y no hematopoyéticas. La unión del receptor c-kit por al SCF induce su dimerización seguida de su transfosforilación, lo que conduce al reclutamiento y la activación de múltiples sustratos intracitoplasmáticos. Estos sustratos activados inducen diversas sendas de señalización intracelular responsables de la proliferación celular y la activación (Boissan and Arock, 45 2000). Los mastocitos se caracterizan por su heterogeneidad, no solamente en lo que respecta a su localización en los tejidos y estructuras sino también a nivel funcional y bioquímico [Aldenborg and Enerback, *Histochem. J.*, 26:587-96 (1994); Bradding *et al.*, *J. Immunol.*, 155:297-304 (1995); Irani *et al.*, *J. Immunol.*, 147:247-53 (1991); Millar *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 1:637-42 (1989) y Welle *et al.*, *J. Leukoc. Biol.* 61:233-45 (1997)].

50 En este caso, se postula que la activación de los mastocitos mediante diferentes estímulos tales como la tensión, trauma, infecciones así como también por los neurotransmisores, participa en la exacerbación del desequilibrio bioquímico causante de los trastornos del SNC.

Más específicamente, la desgranulación de los mastocitos se estimula mediante los neurotransmisores comunes tales 55 como la neurotensina, somatostatina, sustancia P y acetilcolina, factores de crecimiento y sobre vivencia, notablemente el NG, TGFβ-1 (ver Figura 1). Los mastocitos implicados en la respuesta a tales estímulos pueden ser mastocitos cerebrales pero también otros mastocitos que liberan el contenido de sus gránulos en la corriente sanguínea que finalmente alcanza las neuronas sensoriales y motoras. La tinción de los mastocitos cerebrales es similar a la tinción CTMC pero muestra el patrón de secreción de MMC lo que implica que constituyen un subconjunto particular que 60 muestra especificidades de mastocito.

A continuación de la activación de los mastocitos, los gránulos de liberación liberan diversos factores capaces de modular y alterar la neurotransmisión y la sobre vivencia de las neuronas. Entre tales factores, la serotonina es importan- 65 te ya que en los pacientes deprimidos se ha observado un incremento en el nivel de serotonina libre. Por el contrario, el incremento súbito de serotonina libre puede estar seguido de un período de falta de serotonina, que produce dolor y migrañas. Como consecuencia, se cree que los mastocitos exacerbaban de modo autocrino o paracrino la desregulación de la neurotransmisión. Por ejemplo, la ansiedad o la liberación de neurotransmisores inducida por la tensión, tales como la serotonina activan los mastocitos, que a su vez, liberan el contenido de sus gránulos, contribuyendo todavía más al dese-

equilibrio químico cerebral que conduce a los trastornos del SNC. Otros mediadores liberados por los mastocitos se pueden caracterizar como vasoactivos, nociocéptivos, proinflamatorios y otros neurotransmisores. Entre todos, estos factores son capaces de inducir grandes disturbios en la actividad de las neuronas, ya sean sensoriales, motoras o de SNC.

5 Hemos observado que los pacientes afligidos con mastocitosis son más propensos al desarrollo de trastornos del SNC que la población normal. Ello se puede explicar por la presencia de mutaciones activadoras del receptor c-kit, que induce la desgranulación de los mastocitos y explosiones de factores que contribuyen al desequilibrio químico y a las alteraciones de la neurotransmisión. En algunos casos, los mastocitos activados también pueden participar en la destrucción de los tejidos neuronales mediante la liberación de un cocktail de proteasas diferentes y mediadores  
10 caracterizados en tres grupos: mediadores asociados a gránulos preformados (histamina, proteoglicanos y proteasas neutras), mediadores derivados de lípidos (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos) y diversas citoquinas (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, MIP-Ia, MIP-Ib, MIP-2 y IFN- $\gamma$ ). En consecuencia, la liberación por los mastocitos activados de mediadores (TNF- $\alpha$ , histamina, leucotrienos, prostaglandinas etc.) así como también de proteasas, se propone aquí que i) induce la inflamación y vaso dilatación y que ii) participa en el proceso de  
15 destrucción del tejido neuronal.

En consecuencia, la presente invención propone agotar a los mastocitos utilizando compuestos que son esencialmente específicos para los mastocitos. En relación con esto, se proponen los inhibidores de la tirosina quinasa y más particularmente los inhibidores específicos de la quinasa c-kit, para inhibir la proliferación, sobre vivencia y activación  
20 de los mastocitos.

Se proporciona una nueva vía para el tratamiento de los trastornos del SNC, que consiste en destruir los mastocitos implicados en, y que contribuyen a, la patogénesis de tales trastornos. Se ha descubierto que los inhibidores de las tirosina quinasa y más particularmente los inhibidores de c-kit son especialmente adecuados para alcanzar dicho  
25 objetivo.

### Descripción

La presente invención se refiere a un procedimiento destinado al tratamiento de los trastornos del SNC que comprende administrar un compuesto capaz de agotar los mastocitos de un ser humano que necesita dicho tratamiento.  
30

Dicho procedimiento para tratar los trastornos del SNC puede comprender la administración de un inhibidor de la tirosina quinasa de un ser humano que necesita dicho tratamiento.

35 Los inhibidores de la tirosina quinasa se seleccionan de entre, por ejemplo, compuestos arílicos bis monocíclicos, bicíclico o heterocíclicos (WO 92/20642), derivados de vinilen-azaindol (WO 94/14808) y 1-ciclopropil-4-piridil-quinolonas (US n° 5.330.992), compuestos de estirilo (US 5.217.999), compuestos de piridiliso estiril-sustituidos (US n° 5.302.606), selenoindoles y selénidos (WO 94/032427), compuestos polihidroxílicos tricíclicos (WO 92/21660) y compuestos de ácido bencilfosfónico (WO 91/15495), derivados de la pirimidina (US n° 5.521.184 y WO 99/03854), derivados de indolinona e indolinonas pirrol-sustituidas (US n° 5.792.783, EP 934 931, US n° 5.834.504,  
40 US n° 5.883.116, US 5.883.113, US 5.886.020, WO 96/40116 y WO 00/38519), así como también los compuestos arílicos y heteroarílicos bis monocíclicos y bicíclicos (EP 584 222, US n° 5.656.643 y WO 92/20642), derivados de quinazolina (EP 602 851, EP 520 722, US n° 3.772.295 y US 4.343.940) y quinazolina arílica y heteroarílica (US n° 5.721.237, US n° 5.714.493, US n° 5.710.158 y WO 95/15758).

45 Preferentemente, dichos inhibidores de la tirosina quinasa son incapaces de promocionar la muerte de los cultivos celulares dependientes de IL-3 en presencia de IL-3.

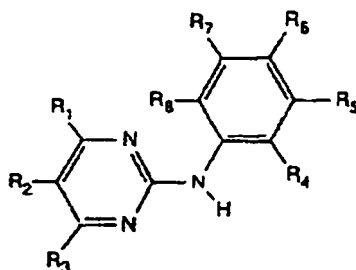
En otra forma de realización, la presente invención está dirigida a un procedimiento destinado al tratamiento de los trastornos de SNC que comprende la administración de un inhibidor de c-kit a un ser humano que necesita dicho  
50 tratamiento.

Preferentemente, dicho inhibidor de c-kit es un inhibidor de c-kit no tóxico, selectivo y potente. Dicho inhibidor se puede seleccionar de entre el grupo constituido por indolinonas, derivados de pirimidina, derivados de pirrolo-pirimidina, derivados de quinazolina, derivados de quinoxalina, derivados de los pirazoles, compuestos arílicos bis monocíclicos, bicíclicos o heterocíclicos, derivados de vinilen-azaindol y derivados de piridil-quinolonas, compuestos de estirilo, compuestos de piridilo estiril-sustituidos, selenoindoles, selénidos, compuestos polihidroxílicos tricíclicos y compuestos del ácido bencilfosfónico.  
55

60 Entre los compuestos preferidos, es de interés concentrarse en los derivados de la pirimidina tales como los N-fenil-2-pirimidin-amino derivados (US n° 5.521.184 y WO 99/03854), los derivados de indolinona y las indolinonas pirrol-sustituidas (US n° 5.792.783, EP 934 931, US n° 5.834.504, US n° 5.883.116, US n° 5.883.113, US n° 5.886.020, WO 96/40116 y WO 00/38519 así como también los compuestos arílicos y heteroarílicos bis-monocíclicos y bicíclicos (EP 584 222, US n° 5.656.643 y WO 92/20642), los derivados de quinazolina (EP 602 851, EP 520 722, US n° 3.772.295 y US n° 4.343.940), las quinazolinas 4-amino-sustituidas (US n° 3.470.182), 4-tienil-2-(1H)-quinazolonas, 6,7-dialcoiquinazolinas (US n° 3.800.039), aríl y heteroaríl quinazolona (US n° 5.721.237, US n° 5.714.493, US n° 5.710.158 y WO 95/15758) compuestos de 4-anilinoquinazolona (US n° 4.464.375) y las 4-tienil-2-(1H)-quinazolonas (US n° 3.551.427).  
65

## ES 2 269 994 T3

Así, preferentemente, la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento de los trastornos del SNC que comprende la administración de un inhibidor de c-kit, no tóxico, potente y selectivo que es un derivado de la pirimidina, más particularmente N-fenil-2-pirimidin-amina de fórmula general I:



en la que

R1 es pirazinilo, 1-metil-1H-pirrolilo, amino- o amino sustituido con fenilo sustituido con alquilo inferior en el que el grupo amino en cada caso está libre o está en forma de un alquilamino inferior, dialquilamino inferior, alcanoilamino inferior o bezoilamino inferior, 1H-indolilo o 1H-imidazolilo unido a un carbono de un anillo de cinco miembros, o no sustituido, o un piridilo alquil-sustituido unido a un átomo de carbono de un anillo y no sustituido o sustituido en el átomo de nitrógeno por oxígeno,

R2 y R3 son los dos independientemente uno del otro H o alquilo inferior,

uno o dos de los radicales R4, R5, R6, R7 y R8 son cada uno nitro, alcoxi inferior sustituido con fluor o un radical de fórmula II



en la que

R9 es hidrógeno o alquilo inferior,

X es oxo, tio, imino, N-alquilamino inferior, hidroximino o O-alquil-hidroximino inferior,

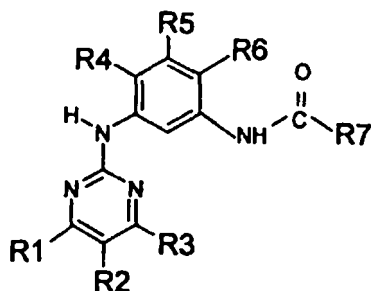
Y es oxígeno o el grupo NH,

n es 0 ó 1 y

R10 es un radical de hidrocarburo alifático de entre 5 y 22 átomos de carbono, un radical fenilo o naftilo cada uno de los cuales no está sustituido o está sustituido con ciano, trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi inferior, alcanoiloxi inferior, halógeno, amino, alquilamino inferior, di-alquilamino inferior, alcanoilamino inferior, benzoilamino, carboxi, alcocarbonilo inferior alquilo inferior no sustituido o sustituido, o fenil alquilo inferior en el que el radical fenilo no está sustituido o está sustituido como se indica anteriormente, un radical cicloalquilo o cicloalqueno de hasta 30 átomos de carbono, cicloalquil-alquilo inferior o cicloalqueno-alquilo inferior cada uno con hasta 30 átomos de carbono en la parte cicloalquilo o cicloalqueno, o un radical monocíclico de entre 5 y 6 miembros en el anillo y 1 a 3 átomos del anillo seleccionados de entre el grupo constituido por nitrógeno, oxígeno y azufre, al que uno o dos radicales de benceno pueden estar unidos, o alquilo inferior sustituido por dicho radical monocíclico, y los radicales restantes R4, R5, R6, R7 y R8 son cada uno independientemente de los demás hidrógeno, alquilo inferior no sustituido o sustituido por amino, alquilamino inferior, di-alquilamino inferior, piperacino, piperidino, pirrolidino, o por morfolino o alcanoil inferior, trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi inferior, alcanoiloxi inferior, halógeno, amino, alquilamino inferior, di-alquilamino inferior, alcanoilamino inferior, benzoilamino, carboxi o alcocarbonilo inferior, el término "inferior" en cada caso se refiere a un radical que tiene hasta 7 átomos de carbono, inclusive, o a una sal de dicho compuesto con por lo menos un grupo que forma la sal.

## ES 2 269 994 T3

Preferentemente, el derivado N-fenil-2-pirimidinamino está seleccionado de entre el grupo de compuestos correspondientes a la fórmula II:

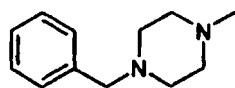


en la que

20 R1, R2 y R3 son independientemente elegidos de entre el grupo que consiste en H, F, Cl, Br, I, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> o un grupo cíclico o heterocíclico, especialmente un grupo piridilo;

R4, R5 y R6 se eligen independientemente de entre el grupo consistente en H, F, Cl, Br, I, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> o un grupo cíclico o heterocíclico, especialmente un grupo metilo;

25 y R7 es un grupo fenilo con por lo menos un sustituyente, que a su vez posee por lo menos un lugar básico, tal como una función amino:



de entre estos compuestos, son preferidos los definidos como sigue:

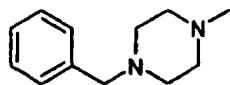
35 R1 es un grupo heterocíclico, especialmente un grupo piridilo

R2 y R3 son H,

R4 es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, especialmente un grupo metilo,

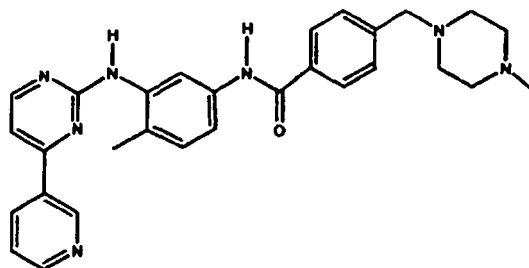
40 R5 y R6 son H,

y R7 es un grupo fenilo que lleva por lo menos un sustituyente, que a su vez posee por lo menos un lugar básico, tal como una función amino, por ejemplo el grupo:



Por consiguiente, en una forma de realización preferida, la invención se refiere a un procedimiento para tratar los trastornos de SNC que comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto conocido en la materia como CGP57148B:

55 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida correspondiente con la siguiente fórmula:



## ES 2 269 994 T3

La preparación de este compuesto se describe en el Ejemplo 21 del documento EP 564 409 y la forma  $\beta$ , que es de particular utilidad se describe en WO 99/03854.

Por el contrario, el inhibidor de c-kit se puede seleccionar de entre:

- derivados de indolinona, más particularmente indolinonas sustituidas con pirrol,
- compuestos monocíclicos, bicíclicos arílicos y heteroarílicos, derivados de quinazolina y,
- derivados de quinazolinas, tales como 2-fenil-quinazolina, por ejemplo 2-fenil-6,7-dimetoxi quinazolina.

En una forma de realización preferida, la presente invención contempla el procedimiento mencionado anteriormente, en el que dicho inhibidor de c-kit es incapaz de promocionar la muerte de células dependientes de IL-3 cultivadas en presencia de IL-3.

Los trastornos del SNC a que se refiere la presente memoria incluyen, pero sin quedar limitados, a los trastornos psiquiátricos, migrañas, dolor, pérdida de memoria y degeneración de las células nerviosas.

Más particularmente, el procedimiento según la presente invención es de utilidad en el tratamiento de los siguientes desórdenes:

- La depresión incluye los trastornos distímicos, desórdenes ciclotímicos, depresión bipolar, depresión grave o "melancólica", depresión atípica, depresión refractaria, depresión estacional, anorexia, bulimia, síndrome premenstrual, síndrome postmenopáusico.
- Otros síndromes tales como el retraso mental y la pérdida de concentración, preocupación pesimística, inquietud, auto-culpabilización, pérdida de libido.
- Dolor, que incluye dolor agudo, dolor posquirúrgico, dolor crónico, dolor nociocectivo, dolor oncológico, dolor neuropático, síndrome de dolor psicogénico.
- Trastornos de ansiedad que incluyen ansiedad asociada a la hiperventilación y arritmias cardíacas, trastornos fóbicos, trastornos obsesivos-compulsivos, trastorno de tensión postraumática, trastorno de tensión aguda, trastorno de ansiedad generalizada.
- Emergencias psiquiátricas tales como ataques de pánico, incluyendo psicosis, trastornos imaginarios, trastornos de conversión, fobias, manías, delirios, episodios disociadores que incluyen amnesia disociadora, fuga disociadora y trastornos de disociadores de la identidad, despersonalización, catatonía y convulsiones.
- Emergencias psiquiátricas graves que incluyen comportamiento suicida, descuido personal, comportamiento violento o agresivo, trauma, personalidad marginal y psicosis aguda.
- Esquizofrenia, que incluye esquizofrenia paranoide, esquizofrenia desorganizada, esquizofrenia catatónica y esquizofrenia indiferenciada.
- Enfermedades neurodegenerativas que incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la enfermedad de priones, la enfermedad de Neuronas Motoras (MND) y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ALS).

Por consiguiente, en una forma de realización preferida, el procedimiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento de la depresión.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento del dolor.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento de los trastornos de ansiedad.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento de los trastornos psiquiátricos.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento de la esquizofrenia.

En otra forma de realización preferida, el tratamiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento de los trastornos neurodegenerativos.

## ES 2 269 994 T3

El procedimiento tal como se describió anteriormente también es de utilidad en el tratamiento de la pérdida de memoria.

5 En todavía otra forma de realización preferida, el procedimiento de la presente invención se puede aplicar al tratamiento de la migraña.

En todavía otra forma de realización de la presente invención, los inhibidores de c-kit tal como se describió anteriormente son inhibidores del c-kit activado. Según la invención, la expresión "c-kit activado" se refiere a un c-kit mutante constitutivamente activado que incluye por lo menos una mutación seleccionada de entre mutaciones puntuales, eliminaciones, inserciones, pero también modificaciones y alteraciones de la secuencia de c-kit natural (SEC. ID n° 1). Tales mutaciones, eliminaciones, inserciones, modificaciones y alteraciones pueden tener lugar en el dominio de transfosforilasa, en el dominio adyacente a la membrana así como también en cualquier dominio directa o indirectamente responsable de la actividad de c-kit. La expresión "c-kit activado" también se refiere en la presente memoria a c-kit activado por SCF. Las concentraciones preferidas y óptimas de SCF para activar c-kit se encuentran comprendidas entre  $5 \cdot 10^{-7}$  M y  $5 \cdot 10^{-6}$  M, preferentemente aproximadamente  $2 \cdot 10^{-6}$  M. en una forma de realización preferida, el c-kit mutante activado en la etapa a) tiene por lo menos una mutación próxima a Y823, más particularmente entre el aminoácido 800 y 850 de SEC. ID n° 1 implicada en la autofosforilación de c-kit, notablemente los mutantes D816V, D816Y, D816F y D820G. En otra forma de realización preferida, el mutante activado de c-kit en la etapa a) tiene una delección en el dominio de c-kit adyacente a la membrana. Dicha delección está, por ejemplo, entre el codon 573 y el 579 denominada c-kit d(573-579). La mutación puntual V559G próxima al dominio adyacente a la membrana de c-kit también es de interés.

En tal respecto, la presente invención contempla un procedimiento para tratar los trastornos del SNC, tal como se definieron anteriormente, que comprende administrar a un ser humano en necesidad de tal tratamiento, un compuesto que es un inhibidor selectivo, potente y no tóxico del c-kit activado, obtenible mediante un procedimiento de selección que comprende:

- a) poner en contacto (i) c-kit activado y (ii) por lo menos uno de los compuestos que deben ser ensayados; bajo condiciones que permiten que los componentes (i) y (ii) formen un complejo,
- b) seleccionar los compuestos que inhiben la actividad de c-kit,
- c) ensayar y seleccionar un subconjunto de compuestos identificados en la etapa b), que no son capaces de inducir la muerte de las células dependientes de IL-3 cultivadas en presencia de IL-3.

Este procedimiento de selección puede comprender además la etapa que consiste en ensayar y seleccionar un subconjunto de compuestos identificados en la etapa b) que son inhibidores del c-kit mutante activado (por ejemplo en el dominio de transfosforilasa), que son además capaces de inhibir el c-kit silvestre activado por CSF.

40 Por el contrario, en la etapa a) el c-kit activado es c-kit silvestre activado por SCF.

Una de las mejores formas de practicar este procedimiento consiste en ensayar los inhibidores putativos a una concentración superior a  $10 \mu\text{M}$  en la etapa a). Las concentraciones relevantes son, por ejemplo, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ó  $40 \mu\text{M}$ .

En la etapa c), IL-3 está presente preferentemente en el medio de cultivo de las células dependientes de IL-3 a una concentración comprendida entre 0,5 y 10 ng/ml, preferentemente entre 1 y 5 ng/ml.

Los ejemplos de células dependientes de IL-3 incluyen, pero sin ser limitativos:

- las líneas celulares que naturalmente expresan y dependen de c-kit para su crecimiento y supervivencia. Entre tales células, se pueden establecer mastocitos humanos utilizando el siguiente proceso: Se pueden infectar mastocitos humanos con vectores retrovíricos que contienen secuencias codificantes de c-kit mutado que comprenden la secuencia del péptido señal de c-kit y una secuencia TAG que permite diferenciar los mutantes de c-kit del c-kit silvestre expresado en las células hematopoyéticas mediante anticuerpos.

Tal procedimiento es ventajoso porque no induce la mortalidad celular y la transferencia genética es estable y produce rendimientos satisfactorios (aproximadamente del 20%). Los mastocitos humanos puros se pueden obtener de modo rutinario cultivando células precursoras originarias de la sangre obtenida de la vena umbilical humana. En relación a esto, la sangre heparinizada de la vena umbilical se centrifuga en un gradiente de Ficoll de modo que se aíslan las células mononucleares de los demás componentes de la sangre. A continuación se purifican los precursores CD34+ de las células purificadas anteriormente mencionadas utilizando el sistema de selección inmunogenética MACS (Miltenyi biotech). Las células CD34+ se cultivan a continuación a  $37^\circ\text{C}$  en una atmósfera de 5%  $\text{CO}_2$  a una concentración de 105 células/ml en medio MCCM ( $\alpha$ MEM suplementado con L-glutamina, penicilina, estreptomycin,  $5 \cdot 10^{-5}$  M  $\beta$ -mercaptoetanol, 20% suero bovino fetal, 1% albúmina bovina y 100 ng/ml SCS humano recombinante. Se cambia el medio cada 5 a 7 días. El porcentaje de mastocitos presentes en el cultivo se determina cada semana, utilizando la coloración de Giemsa May-Grünwald o azul de Toluidina. Los anticuerpos anti-triptasa se pueden utilizar también

## ES 2 269 994 T3

para detectar mastocitos en cultivo. Después de 10 semanas de cultivo, se obtiene una población pura de mastocitos (>98%).

5 Utilizando procedimientos estándar es posible preparar vectores que expresan c-kit para transfectar las líneas celulares establecidas tal como se mencionó anteriormente. El cADN del c-kit humano ha sido descrito por Yarden *et al.*, *EMBO J.*, 6(11):3341-3351 (1987). La región codificante de c-kit (3000 bp) se puede amplificar mediante PCR y clonar, utilizando los siguientes oligonucleótidos:

10 5'AAGAAGAGATGGTACCTCGAGGGGTGACCC3' (SEC. ID nº 2) sentido  
5'CTGCTTCGCGGCCGCGTAACTCTTCTCAACCA 3' (SEC. ID nº 3) antisentido

15 El producto de la PCR digerido con NotI y XhoI, se inserta utilizando T4 ligasa en el vector pFLAG-CMV (Sigma), vector que se digiere con NotI y XhoI y desfosforila utilizando CAP (Biolabs). El pFLAG-CMV-c-Kit se utiliza para transformar el clon bacteriano X11-blue. La transformación de los clones se verifica utilizando los siguientes cebadores:

20 - 5'AGCTCGTTTAGTGAACCGTC3' (SEC. ID nº 4) sentido  
- 5'GTCAGACAAAATGATGCAAC3' (SEC. ID nº 5) antisentido

Se realiza mutagénesis dirigida utilizando los casetes relevantes mediante procedimientos de rutina conocidos en la materia.

25 El vector Migr-I (ABC) se puede utilizar como la base para la construcción de los vectores retrovéricos utilizados con el fin de transfectar los mastocitos maduros. Dicho vector es ventajoso debido a que contiene la secuencia que codifica GFP en el extremo 3' y de un IRES. Tales características permiten seleccionar las células infectadas por el retrovirus utilizando un análisis directo con un fluorocitómetro. Tal como se mencionó anteriormente, la secuencia N-terminal del cADN de c-kit se puede modificar para introducir una secuencia FLAG que será de utilidad para discriminar el c-kit heterólogo del endógeno.

Otras líneas celulares dependientes de IL-3 que se pueden utilizar incluyen, sin quedar limitadas, a:

- 35 - células de ratón BaF<sub>3</sub> que expresan c-kit silvestre o c-kit mutante (en la zona adyacente a la membrana o en la región catalítica) descritas por Kitayama *et al.*, *Blood*, 88:995-1004 (1996), Tsujimura *et al.*, *Blood*, 93:1319-1329 (1999).  
- células de ratón IC-2 que expresan c-kit<sup>wt</sup> silvestre o c-kit<sup>D814Y</sup> descritas en Piao *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93:14665-14669 (1996).

40 Las líneas celulares independientes de IL-3 son:

- 45 - HMC-1, una línea celular dependiente de factor derivada de un paciente con leucemia mastocítica, que expresa una mutación del polipéptido c-kit en la región adyacente a la membrana que tiene actividad constitutiva de quinasa (Furitsu T. *et al.*, *J. Clin. Invest.* 92:1736-1744 (1993); Butterfield *et al.*, Establishment of an immature mast cell line from a patient with mast cell leukemia. *Leuk. Res.*, 12:345-355 (1988) y Nagata *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:10560-10564 (1995).  
50 - Línea celular P815 (mastocitoma que expresa naturalmente una mutación c-kit en la posición 814) ha sido descrita por Tsujimura *et al.*, *Blood*, 83:2619-2626 (1994).

55 La extensión a la que el componente (ii) inhibe el c-kit activado se puede medir *in vitro* o *in vivo*. Cuando se miden *in vivo*, las líneas celulares que expresan un mutante activado de c-kit, que tiene por lo menos una mutación próxima a Y823, más particularmente entre los aminoácidos 800 y 850 de la SEC. ID nº 1, implicada en la auto fosforilación de c-kit, son particularmente preferidos los mutantes D816V, D816Y, D816F y D820G.

Los ejemplos de líneas celulares que expresan un mutante de c-kit activado son los mencionados anteriormente.

60 En otra forma de realización preferida, el procedimiento comprende además la etapa que consiste en ensayar y seleccionar los compuestos capaces de inhibir c-kit silvestre en concentraciones inferiores a 1  $\mu$ M. Lo que se puede medir *in vivo* o *in vitro*.

Por consiguiente, los compuestos que se identifican y seleccionan según el procedimiento descrito anteriormente son inhibidores de c-kit silvestre potentes, selectivos y no tóxicos.

65 Por el contrario, el procedimiento de selección tal como se describió anteriormente se puede practicar *in vitro*. En relación con ello, la inhibición de c-kit mutante activado/o del c-kit silvestre se puede medir utilizando procedimien-

## ES 2 269 994 T3

tos bioquímicos estándar tales como la inmunoprecipitación y la transferencia Western. Preferentemente, se mide la cantidad de fosforilación de c-kit.

5 En todavía otra forma de realización, la presente invención contempla un procedimiento para tratar los trastornos del SNC tal como se describió anteriormente, en el que la selección comprende:

- 10 a) realizar un ensayo de proliferación con células que expresan un c-kit mutante (por ejemplo en el dominio de transfosforilasa), mutante que consiste en un c-kit permanentemente activado, utilizando una multiplicidad de compuestos de ensayo destinados a identificar un subconjunto de compuestos candidatos dirigidos a c-kit activado, cada uno con un  $IC_{50} < 10 \mu M$ , mediante la medición de la cantidad de mortalidad celular.
- 15 b) realizar un ensayo de proliferación con células que expresan c-kit silvestre, el subconjunto de compuestos candidatos identificados en la etapa a), dichas células dependientes de IL-3 cultivadas en presencia de IL-3, con el fin de identificar un subconjunto de compuestos candidatos dirigidos específicamente a c-kit activo,
- 20 c) realizar un ensayo de proliferación utilizando células que expresan c-kit, con el subconjunto de los compuestos identificados en la etapa b) y seleccionando el subconjunto de compuestos candidatos dirigidos a c-kit silvestre, que tienen cada un  $IC_{50} < 10 \mu M$ , preferentemente  $IC_{50} < 1 \mu M$ , mediante la medición de la cantidad de mortalidad celular.

25 En este caso, la cantidad de mortalidad celular se puede medir mediante la incorporación de  $^3H$  timidina, el procedimiento de exclusión de azul de trypan o mediante citometría de flujo con yoduro de propidio. Estos son procedimientos de aplicación rutinaria en la materia.

El procedimiento según la presente invención incluye evitar, retardar la aparición y/o el tratamiento de los trastornos del SNC en los seres humanos. En lo que respecta a la enfermedad de los priones, la presente invención incluye el tratamiento de los mamíferos tales como las especies de bóvidos y óvidos.

30 En el procedimiento descrito anteriormente, se puede utilizar cualquier compuesto capaz de agotar los mastocitos. Tales compuestos pueden pertenecer a, tal como se explicó anteriormente, los inhibidores de la tirosina quinasa, tales como los inhibidores de c-kit, pero no queda limitado a una familia en particular mientras dichos compuestos muestren capacidad para agotar los mastocitos. Se puede valorar la agotación de los mastocitos utilizando por ejemplo una de las líneas celulares de mastocitos descritas anteriormente utilizando procedimientos de rutina.

35 Los mejores compuestos son los compuestos que muestran mayor selectividad.

40 Las líneas celulares control incluyen otras células hematopoiéticas que no son mastocitos o células o líneas celulares relacionadas. Tales líneas celulares control incluyen las células humanas normales CD34+ expandidas independientes de SCF. Tales líneas celulares control también incluyen, pero sin quedar limitadas, la línea de linfocitos T humanos Jurkat (ATCC n° TIB-152 y las líneas mutantes derivadas de la misma), las líneas humanas de linfocitos B Daudi o Raji (ATCC n° CCL-213 y CCL-86, respectivamente), la línea de monocitos B humanos U937 (ATCC n° CRL-1593.2) y la línea humana HL-60 (ATCC n° CCL-240) y las líneas celulares mutantes derivadas de las mismas CRL-2258 y CRL-2392).

45 Dichos compuestos se pueden seleccionar mediante un procedimiento para identificar compuestos capaces de agotar los mastocitos, siendo dicho compuesto no tóxico para tipos celulares otros que los mastocitos, que comprende las etapas de:

- 50 a) cultivar mastocitos *in vitro* en medio de cultivo para mastocitos,
- b) añadir a dicho medio de cultivo por lo menos uno de los compuestos que se debe ensayar e incubar dichas células durante un período de tiempo prolongado,
- 55 c) seleccionar los compuestos que inducen la muerte de los mastocitos,
- d) identificar un subconjunto de compuestos seleccionados en la etapa c) que son incapaces de promover la muerte de las células seleccionadas de entre el grupo de líneas celulares controles mencionadas anteriormente.

60 Por consiguiente, la invención incluye la utilización de los compuestos definidos anteriormente para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de los trastornos de SNC tales como los trastornos psiquiátricos, la migraña, el dolor, la pérdida de memoria y la degeneración de las células nerviosas.

65 La presente invención también está dirigida a la utilización de los compuestos definidos anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de los trastornos seleccionados de entre el subgrupo consistente en:

## ES 2 269 994 T3

- Depresión, que incluye trastornos distímicos, trastornos ciclotímicos, depresión bipolar, depresión grave o “melancólica”, depresión atípica, depresión estacional, anorexia, bulimia, síndrome premenstrual, síndrome post menopáusico.
- 5 - Otros síndromes tales como el retraso mental y pérdida de la concentración, preocupación pesimista, inquietud, auto destrucción, disminución de la libido.
- Dolor, que incluye dolor agudo, dolor post operativo, dolor crónico, dolor nociceptivo, dolor oncológico, dolor neuropático, síndromes de dolor psicogénico.
- 10 - Trastornos de ansiedad, que incluyen ansiedad asociada con la hiperventilación y la arritmia cardíaca, trastornos fóbicos, trastornos obsesivos-depresivos, trastornos de la tensión postraumática, trastornos de la tensión aguda, trastornos generalizados de la ansiedad.
- 15 - Urgencias psiquiátricas tales como ataques de pánico, incluyendo la psicosis, trastornos imaginarios, trastornos de conversión, fobias, manías, delirios, episodios disociadores que incluyen amnesia disociadora, fuga disociadora y trastornos disociadores de la identidad, despersonalización, catatonia, convulsiones.
- Urgencias psiquiátricas graves que incluyen comportamiento suicida, auto abandono, comportamiento violento o agresivo, trauma, personalidad marginal y psicosis aguda.
- 20 - Esquizofrenia que incluye esquizofrenia paranoide, esquizofrenia desorganizada, esquizofrenia catatónica y esquizofrenia indiferenciada.
- 25 - Trastornos neurodegenerativos que incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la enfermedad de los priones, la Enfermedad de las Neuronas Motoras (MND) y la Esclerosis Lateral Amiotrofica (ALS).

30 Las composiciones farmacéuticas utilizadas en la presente invención se pueden administrar mediante cualquier vía que incluye, pero sin ser limitante, la vía oral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intracecal, intraventricular, transdermal, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, enteral, tópica, sublingual o rectal.

35 Además de los ingredientes activos, la presente composición puede comprender vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. En la última edición de Pharmaceutical Sciences de Remington (Maack Publishing Co., Easton, Pa.) se pueden hallar procedimientos adicionales para la formulación y la administración.

40 Las composiciones farmacéuticas destinadas a la administración oral se pueden formular utilizando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la materia en formas de dosis adecuadas para la administración oral. Tales vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas se puedan formular como tabletas, píldoras, cápsulas, grageas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y semejantes, destinados a la ingestión por el paciente.

45 Más particularmente, la invención se refiere a una composición farmacéutica destinada a la administración oral.

50 En relación con el tratamiento del dolor, la administración tópica puede ser la más adecuada en algunos casos. Aquí, las composiciones según la presente invención se pueden presentar como una gelatina, pasta, ungüento, crema, loción, suspensión acuosa líquida, suspensión alcohólica acuosa, o disoluciones oleosas, o dispersiones de la loción de tipo suero, o de géles anhidros o hidrófobos, o emulsiones de consistencia líquida o semisólida de tipo lechoso obtenidas mediante la dispersión de una fase grasa en una fase acuosa o lo contrario, o una suspensión o emulsión de consistencia blanda semisólida de tipo crema o gelatina, o por el contrario de microemulsiones, de micro cápsulas o micropartículas, o de dispersiones de vesículas de tipo iónico y/o no iónico. Tales composiciones se preparan de acuerdo con procedimientos estándar.

55 Las composiciones según la presente invención comprenden cualquier ingrediente comúnmente utilizado en la dermatología y la cosmética. Puede comprender por lo menos un ingrediente seleccionado de entre el grupo que consiste en agentes gelatinizantes hidrófobos o hidrófilos, agentes activos hidrófobos o hidrófilos, preservantes, emolientes, polímeros para incrementar la viscosidad, humectantes, tensoactivos, conservantes, antioxidantes, disolventes, rellenos, antioxidantes, disolventes, perfumes, rellenos, agentes apantallantes, bactericidas, absorbentes de los olores y materiales colorantes.

60 Como aceites que se pueden utilizar en la presente invención se puede mencionar los aceites minerales (parafina líquida), aceites vegetales (fracción líquida de sebo marino, aceite de girasol), aceites animales, aceites sintéticos, aceites de siliconas (ciclometicona) y aceites fluorados. Los alcoholes grasos, ácidos grasos (ácido esteárico) y las ceras (parafina, carnauba, cera de abeja) también se pueden utilizar como sustancias grasas.

65 Como emulgentes que se pueden utilizar en la presente invención se contemplan estearato de glicerol, polisorbato 60 y la mezcla de estearato de PEG-6/PEG-32/glicol.

5 Como agentes hidrófilos gelatinizantes se pueden mencionar los polímeros de carboxivinilo (carbómero), copolímeros acrílicos tales como los copolímeros de acrilato/alquilacrilato, poliacrilamidas, polisacáridos tales como la hidroxipropilcelulosa, arcillas y gomas naturales y como agentes gelatinizantes hidrófobos se pueden mencionar las arcillas modificadas tales como las bentonitas, las sales metálicas de los ácidos grasos tales como el estearato de aluminio y la sílice hidrófoba, o por el contrario la etilcelulosa y el polietileno.

10 Como agentes hidrófilos activos se pueden utilizar las proteínas o los hidrolizados de proteínas, aminoácidos, polioles, urea, alantoina, azúcares y derivados de los azúcares, vitaminas, almidón y extractos de plantas, en particular los de Aloe vera.

10 Como agentes hidrófobos activos se puede utilizar retinol (vitamina A) y sus derivados, tocoferol (vitamina E) y sus derivados, ácidos grasos esenciales, cerámidos y aceites esenciales. Dichos agentes añaden a la piel características adicionales de humidificación y suavidad cuando se utilizan.

15 Además, se puede incluir en la composición un tensioactivo con el fin de proporcionar una penetración más profunda de los compuestos capaces de agotar los mastocitos, tales como un inhibidor de la tirosina quinasa, preferentemente un inhibidor de c-kit.

20 De entre los ingredientes contemplados la presente invención comprende agentes que incrementan la penetración seleccionados de entre, por ejemplo, el grupo que consiste en aceite mineral, agua, etanol, triacetina, glicerina y propilenglicol; agentes cohesionados seleccionados de entre por ejemplo el grupo que consiste en poliisobutileno, acetato de polivinilo y alcohol polivinílico y agentes espesantes.

25 Los procedimientos químicos para incrementar la absorción tópica del fármaco son bien conocidos en la materia. Por ejemplo, los compuestos con propiedades que incrementan la penetración incluyen el lauril sulfato sódico (Dugard, P.H. and Sheuplein, R.J., "Effects of ionic surfactants on the permeability of human epidermis: An electrometric study", *J. Invest. Dermatol.*, V.60, pp. 263-69, 1973), óxido de laurilamina (Johnson *et al.*, patente US n° 4.411.893), azona (Rajadhyaksha, patente US n° 4.405.616 y US n° 3.989.816) y decilmetil sulfóxido (Segura, D.L. and Scala, J., "The percutaneous absorption of alkylmetil sulfides", *Pharmacology of de skin, Advances in Biology of Skin*, (Appleton-Century Craft) V.12, pp. 257-69, 1972). Se ha observado que incrementando la polaridad del grupo de cabeza en las moléculas anfotéricas se incrementan su capacidad para incrementar la penetración pero a cambio de incrementar sus capacidad para irritar la piel [Cooper, E.R. and Berner, B., "Interaction of surfactants with epidermal tissue: Physicochemical aspects", *Surfactant Science Series*, V.16, Reiger, M.M. ed., (Marcel Dekker, Inc.) pp.195-210, 1987].

35 A una segunda clase de amplificadores químicos se los refiere generalmente como co-disolventes. Dichos materiales se absorber tópicamente con relativa facilidad y, mediante múltiples mecanismos, logran amplificar la penetración de algunos fármacos. El etanol (Gale *et al.*, patente US n° 4.615.699 y Campbell *et al.*, patente US n° 4.460.372 y 4.379.454), dimetilsulfóxido (patente US n° 3.740.420; 3.743.727 y patente US n° 4.575.515) y los derivados de la glicerina (patente US n° 4.322.433) son algunos ejemplos de compuestos que han demostrado tener la capacidad de amplificar la absorción de diversos compuestos.

45 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la utilización en la presente invención incluyen composiciones en las que los compuestos para agotar los mastocitos, tales como los inhibidores de la tirosina quinasa y los inhibidores del c-kit, se encuentran en una cantidad efectiva para lograr el propósito deseado. La determinación de la dosis efectiva se encuentra entre las capacidades de los expertos en la materia. Una dosis terapéuticamente efectiva se refiere a la cantidad de ingrediente activo, que disminuye los síntomas o la enfermedad. La eficacia terapéutica y la toxicidad se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o en animales experimentales, p.ej. ED50 (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población) y la LD50 (la dosis letal para el 50% de la población). La proporción entre la dosis tóxica y la terapéutica es el índice terapéutico, que se puede expresar como la proporción LD50/ED50. Se prefieren las composiciones farmacéuticas que muestra una gran índice terapéutico. Tal como se mencionó anteriormente, un inhibidor de la tirosina quinasa y más particularmente un inhibidor de c-kit según la presente invención son incapaces de inducir la muerte de las células dependientes de IL-3 cultivadas en presencia de IL-3.

55 La presente invención también contempla un producto que comprende por lo menos un compuesto capaz de agotar los mastocitos, tal como un inhibidor de la tirosina quinasa, más particularmente un inhibidor de c-kit potente, no tóxico y selectivo y por lo menos un antidepresivo, antipsicótico o ansiolítico para su utilización simultánea, separada o secuencial en el tratamiento de los trastornos del SNC tal como se definió anteriormente.

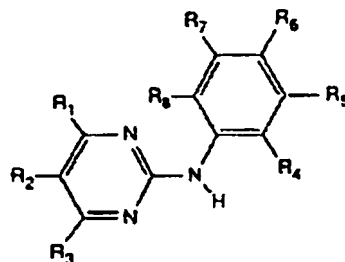
60

65

## REIVINDICACIONES

1. Utilización de un inhibidor de c-kit para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de los trastornos de SNC.

2. Utilización según la reivindicación 1, en la que dicho inhibidor se selecciona de entre el grupo constituido por los derivados de la N-fenil-2-pirimidin-amina de fórmula general I:



en la que

R1 es piracinilo, 1-metil-1H-pirrolilo, amino- o amino-fenilo sustituido con alquilo inferior en el que el grupo amino en cada caso está libre o está en forma de un alquilamino inferior, dialquilamino inferior, alcanoilamino inferior o benzoilamino, 1H-indolilo o 1H-imidazolilo unido a un átomo de carbono de anillo de 5 miembros, o piridilo no sustituido o sustituido con alquilo inferior unido a un átomo de carbono del anillo y no sustituido o sustituido por oxígeno en el átomo de nitrógeno,

R2 y R3 son cada uno de ellos independientemente del otro hidrógeno o alquilo inferior,

uno u dos de los radicales R4, R5, R6, R7 y R8 son cada uno de ellos nitro, alcoxi inferior fluorosustituido o un radical de fórmula II



en la que

R9 es hidrógeno o alquilo inferior,

X es oxo, tio, imino, N-alquilamino inferior, hidroximino o O-alquilo inferior-hidroximino,

Y es oxígeno o el grupo NH,

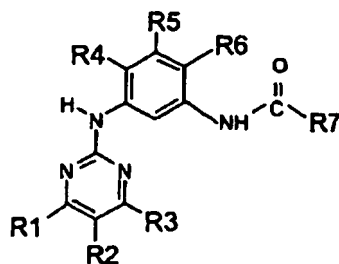
n es 0 ó 1 y

R10 es un radical de hidrocarburo alifático de entre 5 y 22 átomos de carbono, un radical fenilo o naftilo cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con ciano, trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi inferior, alcanoiloxi inferior, halógeno, amino, alquilamino inferior, dialquilamino inferior, alcanoilamino inferior, benzoilamino, carboxi, alcocarbonilo inferior o alquilo inferior no sustituido o sustituido, o fenilo-alquilo inferior en el que el radical fenilo está no sustituido o sustituido tal como se indicó anteriormente, un radical cicloalquilo o cicloalquenilo que presenta hasta 30 átomos de carbono, cicloalquil-alquilo inferior o cicloalquenilo-alquilo inferior presentando cada uno hasta 30 átomos de carbono en la parte cicloalquilo o cicloalquenilo, un radical monocíclico con un anillo de entre 5 ó 6 miembros y entre 1 y 3 átomos del anillo seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre, radical al que pueden estar unidos uno o dos radicales bencénicos, o alquilo inferior sustituido por dicho radical monocíclico,

y el resto de los radicales R4, R5, R6, R7 y R8 son independientemente entre sí hidrógeno, alquilo inferior no sustituido o sustituido con amino, alquilamino inferior, dialquilamino inferior, piperacinilo, piperidinilo, pirrolidinilo o por morfolinilo o alcanoil inferior, trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi inferior, alcanoiloxi inferior, halógeno, amino, alquilamino inferior, dialquilamino inferior, alcanoilamino inferior, benzoilamino, carboxi o alcocarbonilo inferior, refiriéndose el término "inferior" en cada caso a un radical con hasta 7 átomos de carbono, inclusive, o una sal de dicho compuesto con por lo menos un grupo que forma la sal.

## ES 2 269 994 T3

3. Utilización según la reivindicación 1, en la que dicho inhibidor se selecciona de entre el grupo constituido por los derivados de N-fenil-2-pirimidin-amina de fórmula general II:



5

10

15 en la que

R1, R2 y R3 están independientemente seleccionados de entre el grupo constituido por H, F, Cl, Br, I, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> o un grupo cíclico o heterocíclico, especialmente un grupo piridilo;

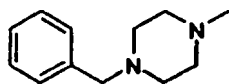
20

R4, R5 y R6 están seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por H, F, Cl, Br, I, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, especialmente un grupo metilo;

y R7 es un grupo fenilo con por lo menos un sustituyente, que a su vez puede poseer por lo menos un lugar básico, tal como una función amino.

25

4. Utilización según la reivindicación 3, en la que R7 es:



30

5. Utilización según la reivindicación 3, en la que dicho inhibidor es 4-(4-metilpiperacin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2 ilamino]fenil]-benzamida.

35

6. Utilización según la reivindicación 1, en la que el inhibidor de c-kit se puede obtener mediante un procedimiento de selección que comprende:

40

a) realizar un ensayo de proliferación con células que expresan un mutante de c-kit (por ejemplo en el dominio de transfosforilasa), cuyo mutante es c-kit permanentemente activado, con una pluralidad de compuestos que se deben ensayar para identificar un subconjunto de compuestos candidatos dirigidos al c-kit activado, cada uno de los cuales tiene un IC<sub>50</sub> < 10 μM, mediante la medición de la cantidad de muerte celular,

45

b) realizar un ensayo de proliferación con células que expresan c-kit silvestre, dicho subconjunto de compuestos candidatos identificados en la etapa (a), dichas células que son dependientes de IL-3 cultivadas en presencia de IL-3, para identificar un subconjunto de compuestos candidatos dirigidos específicamente a c-kit,

50

c) realizar un ensayo de proliferación con células que expresan c-kit, con el subconjunto de compuestos identificados en la etapa (b) y seleccionar un subconjunto de compuestos candidatos dirigidos a c-kit silvestre, teniendo cada uno de ellos un IC<sub>50</sub> < 10 μM, preferentemente un IC<sub>50</sub> < 1 μM, mediante la medición de la cantidad de muerte celular.

7. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 6 destinada a evitar, retardar el comienzo y/o tratar los trastornos del SNC en humanos.

55

8. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de trastornos psiquiátricos, migraña, dolor, pérdida de memoria y degeneración de las células nerviosas.

60

9. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de la depresión que incluye trastornos distímicos, trastornos ciclotímicos, depresión bipolar, depresión grave o "melancólica", depresión atípica, depresión refractaria, depresión estacional, anorexia, bulimia, síndrome premenstrual, síndrome postmenopáusico.

10. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento del retraso mental y la pérdida de la concentración, preocupación pesimista, intranquilidad, autodesaprobación y la libido reducida.

65

11. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento del dolor que incluye el dolor agudo, el dolor postoperatorio, el dolor crónico, el dolor nociceptivo, el dolor oncológico, el dolor neuropático y los síndromes de dolor psicogénico.

## ES 2 269 994 T3

12. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de los trastornos de ansiedad, que incluyen la ansiedad asociada a la hiperventilación y a las arritmias cardíacas, a los trastornos fóbicos, a los trastornos obsesivos-compulsivos, a los trastornos de tensión postraumática, a los trastornos de tensión aguda y a los trastornos de ansiedad generalizada.

5

13. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de los trastornos psiquiátricos tales como los ataques de pánico, incluyendo la psicosis, los trastornos imaginarios, los trastornos de conversión, las fobias, las manías, los delirios, los episodios disociadores incluyendo la amnesia disociadora, la fuga disociadora y los trastornos disociadores de la identidad, despersonalización, catatonia y convulsiones.

10

14. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de los trastornos psiquiátricos que incluyen comportamiento suicida, autoabandono, comportamiento violento o agresivo, trauma, personalidad marginal y psicosis aguda.

15

15. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de la esquizofrenia incluyendo la esquizofrenia paranoide, la esquizofrenia desorganizada, la esquizofrenia catatónica y la esquizofrenia indiferenciada.

20

16. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de los trastornos neurodegenerativos incluyendo la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, las enfermedades de prión, la enfermedad de las neuronas motoras (MND) y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ALS).

17. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de la pérdida de memoria.

25

18. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento de la migraña.

19. Utilización según la reivindicación 7, destinada al tratamiento del dolor.

20. Utilización según la reivindicación 19, en la que el medicamento es adecuado para la administración tópica.

30

35

40

45

50

55

60

65

# ES 2 269 994 T3

## LISTA DE SECUENCIAS

- <110> AB Science
- 5 <120> Utilización de inhibidores de la tirosina quinasa destinada al tratamiento de los trastornos del SNC
- <130> D20044 NT
- 10 <150> US 60/359.652
- <151> 2002-02-27
- 15 <160> 5
- <170> PatenIn ver. 2.1
- 20 <210> 1
- <211> 976
- 25 <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- 30 <220>
- <223> c-kit humano
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

ES 2 269 994 T3

<400> 1

5 Met Arg Gly Ala Arg Gly Ala Trp Asp Phe Leu Cys Val Leu Leu Leu  
1 5 10 15

Leu Leu Arg Val Gln Thr Gly Ser Ser Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly  
20 25 30

10 Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His Pro Gly Lys Ser Asp Leu Ile Val  
35 40 45

Arg Val Gly Asp Glu Ile Arg Leu Leu Cys Thr Asp Pro Gly Phe Val  
50 55 60

15 Lys Trp Thr Phe Glu Ile Leu Asp Glu Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn  
65 70 75 80

20 Glu Trp Ile Thr Glu Lys Ala Glu Ala Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr  
85 90 95

Cys Thr Asn Lys His Gly Leu Ser Asn Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg  
100 105 110

25 Asp Pro Ala Lys Leu Phe Leu Val Asp Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu  
115 120 125

Asp Asn Asp Thr Leu Val Arg Cys Pro Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr  
130 135 140

30 Asn Tyr Ser Leu Lys Gly Cys Gln Gly Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu  
145 150 155 160

Arg Phe Ile Pro Asp Pro Lys Ala Gly Ile Met Ile Lys Ser Val Lys  
165 170 175

35 Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys Leu His Cys Ser Val Asp Gln Glu Gly  
180 185 190

40 Lys Ser Val Leu Ser Glu Lys Phe Ile Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe  
195 200 205

Lys Ala Val Pro Val Val Ser Val Ser Lys Ala Ser Tyr Leu Leu Arg  
210 215 220

45

50

55

60

65

ES 2 269 994 T3

5  
 10  
 15  
 20  
 25  
 30  
 35  
 40  
 45  
 50  
 55  
 60  
 65

Glu Gly Glu Glu Phe Thr Val Thr Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Ser  
 225 230 235 240

Ser Val Tyr Ser Thr Trp Lys Arg Glu Asn Ser Gln Thr Lys Leu Gln  
 245 250 255

Glu Lys Tyr Asn Ser Trp His His Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln  
 260 265 270

Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Ala Arg Val Asn Asp Ser Gly Val Phe  
 275 280 285

Met Cys Tyr Ala Asn Asn Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr  
 290 295 300

Leu Glu Val Val Asp Lys Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn  
 305 310 315 320

Thr Thr Val Phe Val Asn Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Ile Val Glu  
 325 330 335

Tyr Glu Ala Phe Pro Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn  
 340 345 350

Arg Thr Phe Thr Asp Lys Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu  
 355 360 365

Ser Asn Ile Arg Tyr Val Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly  
 370 375 380

Thr Glu Gly Gly Thr Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn  
 385 390 395 400

Ala Ala Ile Ala Phe Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu  
 405 410 415

Thr Tyr Asp Arg Leu Val Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly  
 420 425 430

Phe Pro Glu Pro Thr Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln  
 435 440 445

Arg Cys Ser Ala Ser Val Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ser  
 450 455 460

Ser Gly Pro Pro Phe Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser  
 465 470 475 480

Ser Ala Phe Lys His Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp  
 485 490 495

Val Gly Lys Thr Ser Ala Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Asn  
 500 505 510

Lys Glu Gln Ile His Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Leu Leu Ile Gly  
 515 520 525

Phe Val Ile Val Ala Gly Met Met Cys Ile Ile Val Met Ile Leu Thr  
 530 535 540

Tyr Lys Tyr Leu Gln Lys Pro Met Tyr Glu Val Gln Trp Lys Val Val  
 545 550 555 560

Glu Glu Ile Asn Gly Asn Asn Tyr Val Tyr Ile Asp Pro Thr Gln Leu  
 565 570 575

ES 2 269 994 T3

5 Pro Tyr Asp His Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asn Arg Leu Ser Phe Gly  
 580 585 590  
 Lys Thr Leu Gly Ala Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala  
 595 600 605  
 Tyr Gly Leu Ile Lys Ser Asp Ala Ala Met Thr Val Ala Val Lys Met  
 610 615 620  
 10 Leu Lys Pro Ser Ala His Leu Thr Glu Arg Glu Ala Leu Met Ser Glu  
 625 630 635 640  
 Leu Lys Val Leu Ser Tyr Leu Gly Asn His Met Asn Ile Val Asn Leu  
 645 650 655  
 15 Leu Gly Ala Cys Thr Ile Gly Gly Pro Thr Leu Val Ile Thr Glu Tyr  
 660 665 670  
 Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu Asn Phe Leu Arg Arg Lys Arg Asp Ser  
 675 680 685  
 20 Phe Ile Cys Ser Lys Gln Glu Asp His Ala Glu Ala Ala Leu Tyr Lys  
 690 695 700  
 Asn Leu Leu His Ser Lys Glu Ser Ser Cys Ser Asp Ser Thr Asn Glu  
 705 710 715 720  
 Tyr Met Asp Met Lys Pro Gly Val Ser Tyr Val Val Pro Thr Lys Ala  
 725 730 735  
 30 Asp Lys Arg Arg Ser Val Arg Ile Gly Ser Tyr Ile Glu Arg Asp Val  
 740 745 750  
 Thr Pro Ala Ile Met Glu Asp Asp Glu Leu Ala Leu Asp Leu Glu Asp  
 755 760 765  
 35 Leu Leu Ser Phe Ser Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Ala Phe Leu Ala  
 770 775 780  
 Ser Lys Asn Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu  
 785 790 795 800  
 40 Thr His Gly Arg Ile Thr Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp  
 805 810 815  
 Ile Lys Asn Asp Ser Asn Tyr Val Val Lys Gly Asn Ala Arg Leu Pro  
 820 825 830  
 45 Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asn Cys Val Tyr Thr Phe  
 835 840 845  
 Glu Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Phe Leu Trp Glu Leu Phe Ser  
 850 855 860  
 50 Leu Gly Ser Ser Pro Tyr Pro Gly Met Pro Val Asp Ser Lys Phe Tyr  
 865 870 875 880  
 Lys Met Ile Lys Glu Gly Phe Arg Met Leu Ser Pro Glu His Ala Pro  
 885 890 895  
 55 Ala Glu Met Tyr Asp Ile Met Lys Thr Cys Trp Asp Ala Asp Pro Leu  
 900 905 910  
 60 Lys Arg Pro Thr Phe Lys Gln Ile Val Gln Leu Ile Glu Lys Gln Ile  
 915 920 925  
 65

# ES 2 269 994 T3

	Ser 930	Glu	Ser	Thr	Asn	His	Ile 935	Tyr	Ser	Asn	Leu	Ala 940	Asn	Cys	Ser	Pro
	Asn 945	Arg	Gln	Lys	Pro	Val 950	Val	Asp	His	Ser	Val 955	Arg	Ile	Asn	Ser	Val 960
5	Gly	Ser	Thr	Ala	Ser 965	Ser	Ser	Gln	Pro	Leu 970	Leu	Val	His	Asp	Asp 975	Val

<210> 2

10 <211> 30

<212> ADN

<213> *Homo Sapiens*

15 <220>

<223> Cebador

<400> 2

20 aagaagagat ggtacctcga ggggtgaccc

30

<210> 3

25 <211> 33

<212> ADN

<213> *Homo Sapiens*

30 <220>

<223> Cebador

<400> 3

35 ctgcttcgcg gccgegttaa ctcttctcaa cca

33

<210> 4

40 <211> 20

<212> ADN

<213> *Homo Sapiens*

45 <220>

<223> Cebador

<400> 4

50 agctcgttta gtgaaccgtc

20

<210> 5

55 <211> 20

<212> ADN

<213> *Homo Sapiens*

60 <220>

<223> Cebador

<400> 5

65 gtcagacaaa atgatgcaac

20