

(19)



Octrooi Centrum
Nederland

(11) 1027787

(12) C OCTROOI²⁰

(21) Aanvraag om octrooi: 1027787

(22) Ingediend: 15.12.2004

(51) Int.Cl.:

C07D471/04 (2006.01)

A61P15/00 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

A61K31/519 (2006.01)

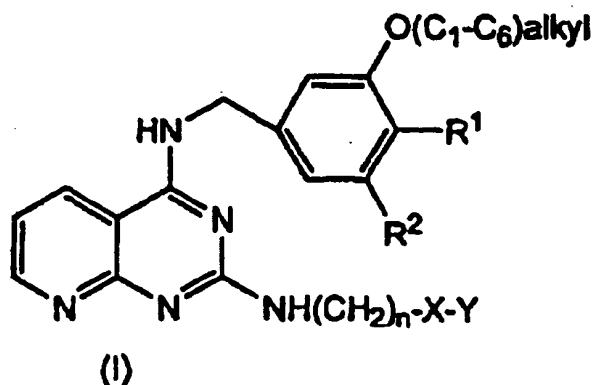
A61P13/00 (2006.01)

A61P19/10 (2006.01)

(30) Voorrang:
16.12.2003 US 60/529994(41) Ingeschreven:
21.06.2005 I.E. 2005/09(47) Dagtekening:
09.03.2006(45) Uitgegeven:
01.05.2006 I.E. 2006/05(73) Octrooihouder(s):
Pfizer Products Inc. te Groton, Connecticut,
Verenigde Staten van Amerika (US).(72) Uitvinder(s):
Thomas Arthur Beyer te Groton,
Connecticut (US).
Robert James Chambers te Groton,
Connecticut (US).
Kelvin Lam te Cambridge, Massachusetts
(US).
Mei Li te Groton, Connecticut (US).
Andrew Ian Morrell te Sandwich (GB).
David Duane Thompson te Groton,
Connecticut (US).(74) Gemachtigde:
Mr. G.L. Kooy c.s. te 2514 BB Den Haag.

(54) Pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diaminen als PDE 2 remmers.

(57) De onderhavige uitvinding heeft betrekking op verbindingen met de formule (I), op prodrugs daarvan en op de farmaceutisch aanvaardbare zouten van de verbindingen of prodrugs, waarbij b, X en Y zijn zoals gedefinieerd in de onderhavige beschrijving. Verder heeft de onderhavige uitvinding betrekking op farmaceutische preparaten van die verbindingen; op combinaties van die verbindingen en op toepassingen van die verbindingen.



NL C 1027787

De inhoud van dit octrooi wijkt af van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en). De oorspronkelijk ingediende stukken kunnen bij het Octrooi Centrum Nederland worden ingezien. Octrooi Centrum Nederland is het Bureau voor de Industriële Eigendom, een agentschap van het ministerie van Economische Zaken

Pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diaminen als PDE 2 remmers

5 GEBIED VAN DE UITVINDING

De uitvinding betreft bepaalde pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diaminen toepasbaar als PDE 2 remmers; farmaceutische formuleringen daarvan; combinaties daarvan; en
10 toepassingen daarvan.

ACHTERGROND VAN DE UITVINDING

De fosfodiesterase (PDE) familie van enzymen regelt
15 intracellulaire niveaus van secundaire boodschapper cAMP of cGMP door hydrolytische regeling. Fosfodiesterase type II (PDE 2) bezit een katalytisch domein met lage affiniteit en een allosterisch domein specifiek voor cGMP. De katalytische plaats met lage affiniteit kan zowel cAMP
20 als cGMP hydrolyseren met een lagere schijnbare K_M voor cGMP ten opzichte van cAMP. Als cGMP bindt aan de allosterische plaats ondergaat de katalytische plaats echter een conformationele verandering en toont hoge affiniteit voor cAMP. PDE 2 toont de hoogste expressie in de hersenen,
25 maar wordt ook gevonden in vele andere weefsels, en heeft derhalve een brede reeks functies en potentieel therapeutisch nut (J.A. Beavo, c.s., Rev. Physio. Biochem. Pharm., 135, 67 (1999). Voorbeelden van PDE 2 functie en therapeutisch potentieel zijn in neuronale ontwikkeling,
30 leren en geheugen (W.C.G. van Staveren, c.s., Brain Res., 888, 275 (2001) en J. O'Donnell, c.s., J. Pharm. Exp. Ther., 302, 249 (2002); prolactine- en aldosteronuitscheiding (M.O. Velardez, c.s., Eur. J. Endo., 143, 279 (2000) en N. Gallo-Payet, c.s., Endo., 140, 3594 (1999);
35 botceldifferentiatie, groei en botresorptie (C. Allardt-Lamberg, c.s., Biochem. Pharm., 59, 1133 (2000) en S. Wa-

kabayashi, c.s., J. Bone. Miner. Res., 17, 249 (2002); immunologische reactie (M.D. Houslay, c.s., Cell. Signal., 8, 97 (1996); vasculaire angiogenese (T. Keravis, c.s., J. Vac. Res., 37, 235 (2000); ontstekingscelover-
 5 dracht (S.L. Wolda, c.s., J. Histochem. Cytochem., 47, 895 (1999); hartcontractie (R. Fischmeister, c.s., J. Clin. Invest. 99, 2710 (1997), P. Donzeau-Gouge, c.s., J. Physiol, 533, 329 (2001) en D.J. Paterson, c.s., Card. Res., 52, 446 (2001); plaatjesaggregatie (R.J. Haslam,
 10 c.s., Biochem. J., 323, 371 (1997); vrouwelijke seksuele opwindingsaandoening (FSAD) (C.P. Wayman, c.s., Europese Octrooiaanvraag Publicatie Nrs. EP 1.097.7707 en 1.0977.06); en hypoxische longvasoconstrictie (J. Haynes, c.s. J. Pharm. Exp. Ther., 276, 752 (1996). Er is getoond
 15 dat EHNA (erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine), een krachtige adenosinedeaminaseremmer, selectief PDE 2 remt, maar de toepassing van EHNA als een PDE 2 gebaseerd therapeutisch middel is beperkt tengevolge van lage kracht bij remmen van PDE 2, en hoge kracht bij remmen van ade-
 20 nosinedeaminase (R. Fischmeister c.s., Mol. Pharm., 48, 121 (1995)).

Er is nu gevonden dat bepaalde pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diaminederivaten met formule (I) hieronder PDE 2 remmen en derhalve nuttig zijn bij de behandeling van fy-
 25 siologische aandoeningen gemedieerd door het cAMP of cGMP cellulair-signaleringspad.

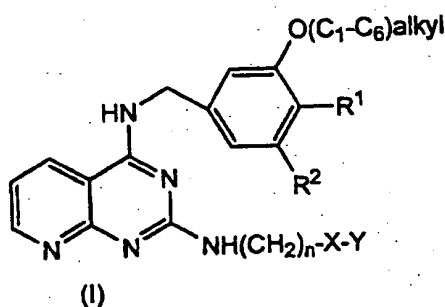
Amerikaans Octrooischriften Nrs. 5.547.954 en 5.710.157 beschrijven bepaalde 2,4-diamino-5,6-digesubstitueerde en 5,6,7-trigesubstitueerde 5-deazapteridinen,
 30 preparaten daarvan en toepassingen daarvan bij het bestrijden van insecten in landbouwgewassen.

SAMENVATTING VAN DE UITVINDING

De uitvinding verschaft verbindingen met formule (I)

5

10



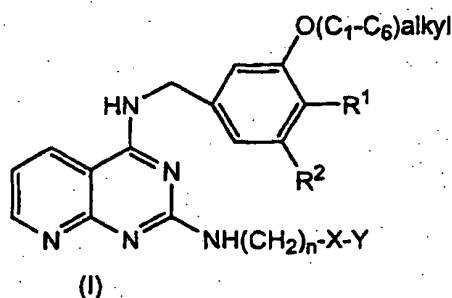
15 prodrugs ervan, en de farmaceutisch aanvaardbare zouten van de verbindingen of prodrugs, waarbij n, X en Y zijn zoals hieronder gedefinieerd, farmaceutische preparaten daarvan, combinaties daarvan en toepassingen daarvan.

20 GEDETAILEERDE BESCHRIJVING VAN DE UITVINDING

De onderhavige uitvinding verschaft verbindingen met formule (I).

25

30



35 de prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbare zouten van de verbindingen of prodrugs, waarbij:

R^1 en R^2 waterstof of methoxy zijn, met dien verstande dat R^1 en R^2 niet beide waterstof of beide methoxy zijn;

n 1, 2, 3 of 4 is;

5 X een binding; O; S; C=O; -N(R)-, waarbij R waterstof of -(C₁-C₃)alkyl is; -C(OH)-; of -SO₂ is; en

Y benzoxazolyl; benzothiazolyl; benzofurazanyl; benzofuranyl; benzothiadiazolyl; benzisoxazolyl; benzisothiazolyl; benzimidazolyl; pyridyl; isatiny; oxindolyl; indazolyl; indolyl, fenyl; thienyl; of furanyl is; waarbij
10 Y eventueel onafhankelijk is gesubstitueerd met één tot drie halogeen; trifluormethyl, methoxy; -C(=O)CH₃; cyano; -C(CH₃)₂OH; -CH(CH₃)OH; -CH(CF₃)OH; -C(=O)CF₃; -SO₂NH₂; -C(=O)OCH₃; -CH₂COOH;

15



thiazolyl of oxadiazolyl.

Een subgroep die in het algemeen de voorkeur heeft
20 waaronder verbindingen met formule (I) omvat die verbindingen waarbij X een binding is en Y benzofurazanyl; thienyl, pyridyl of fenyl, waarbij fenyl eventueel onafhankelijk is gesubstitueerd met één of twee halogeen; trifluormethyl; methoxy; -C(=O)CH₃; cyano; -C(CH₃)₂OH;
25 -CH(CH₃)OH; -CH(CF₃)OH; -C(C=O)CF₃; -SO₂NH₂; -C(=O)OCH₃; -CH₂COOH; thiazolyl of oxadiazolyl is.

Een subgroep met bijzondere voorkeur van de verbindingen met formule (I) omvat die verbindingen waarbij X een binding is, n 2 of 3 is en Y thienyl; pyridyl of fenyl, waarbij fenyl eventueel onafhankelijk is gesubstitueerd met één of twee methoxy; halogeen; -C(CH₂)OH; -CH(CF₃)OH of -C(C=O)CF₃ is.
30

Een cyclische groep kan zijn gebonden aan een andere groep op meer dan één wijze. Als geen bepaalde bindings-
35 rangschikking is gespecificeerd, dan zijn alle mogelijke rangschikkingen bedoeld. Bijvoorbeeld omvat de term "py-

ridyl" 2-, 3- of 4-pyridyl en omvat de thermoplastisch "thienyl" 2- of 3-thienyl.

De verbindingen en tussenproducten volgens de onderhavige uitvinding kunnen worden genoemd volgens hetzij de 5 IUPAC (Internationale Union for Pure and Applied Chemistry) of CAS (Chemical Abstracts Service, Columbus, OH) nomenclatuur systemen.

Het koolstofatoomgehalte van de diverse koolwaterstof bevattende delen kan worden aangegeven door een 10 voorzetsel dat het minimale en maximale aantal koolstofatomen in het deel aangeeft, d.w.z. het voorzetsel "--(C_a-C_b)alkyl" geeft een alkyldeel aan van het geheel getal "a" tot "b" koolstofatomen, inclusief.

De term "alkyl" duidt rechte of vertakte, monovalente 15 ketens van koolstofatomen aan. Voorbeelden van alkylgroepen omvatten methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, en dergelijke.

De term "halogeen" stelt, chloor, fluor, broom en jood voor.

20 De term "prodrug" betreft een verbinding die een geneesmiddel voorloper is welke, volgend op toediening, het geneesmiddel in vivo afgeeft via een chemisch of fysiologisch proces (b.v. na te zijn gebracht tot fysiologische pH of door enzymactiviteit). Een bespreking van de berei- 25 ding en toepassing van prodrugs wordt verschaft door T. Higuchi en W. Stella, "Prodrugs as Novel Delivery Systems", band 4 van de ACS Symposium Series, en in "Bioreversible Carriers in Drug Design", red. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press 30 (1987).

De term "zoogdier" betekent dieren waaronder, bijvoorbeeld, honden, katten, koeien, schapen, paarden en mensen. Zoogdieren die de voorkeur hebben omvatten mensen van elk geslacht.

35 De term "zouten" betreft organische en anorganische zouten van een verbinding met formule (I), of een prodrug

daarvan. Deze zouten kunnen in situ worden bereid tijdens
 de laatste isolatie en zuivering van een verbinding, of
 door afzonderlijke verbinding met formule (I) of een pro-
 drug daarvan te laten reageren met een geschikt organisch
 5 of anorganisch zuur of base en het aldus gevormde zout te
 isoleren. Representatieve zouten omvatten de hydrobromi-
 de-, hydrochloride-, sulfaat-, bisulfaat-, nitraat-, ace-
 taat-, oxalaat-, besyfaat-, palmitaat-, stearaat-, lau-
 raat-, boraat-, benzoaat-, lactaat-, fosfaat-, tosyfaat-,
 10 citraat-, maleaat-, fumaraat-, succinaat-, tartraat-,
 naftyfaat-, mesyfaat-, glucoheptonaat-, lactobionaat- en
 laurylsulfonaatzouten, en dergelijke. Deze kunnen ook
 kationen omvatten gebaseerd op de alkali- en aardalkali-
 metalen, zoals natrium, lithium, kalium, calcium, magne-
 15 sium, en dergelijke, alsmede niet-toxisch ammonium-, qua-
 ternaire ammonium- en amine kationen waaronder, maar zijn
 niet beperkt tot, ammonium, tetramethylammonium, tetra-
 ethylammonium, methylamine, dimethylamine, trimethylami-
 ne, triethylamine, ethylamine, en dergelijke. Voor addi-
 20 tionele voorbeelden zie bijvoorbeeld Berge, c.s., J.
 Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

De term "gesubstitueerd" betekent dat een waterstof-
 atoom op een molecuul is vervangen door een ander atoom
 of molecuul. Het atoom of molecuul dat het waterstofatoom
 25 vervangt, wordt aangeduid als een "substituent".

Zoals hierin gebruikt, betekent de term "therapeu-
 tisch effectieve hoeveelheid" een hoeveelheid van een
 verbinding die in staat is tot het behandelen van een be-
 schreven pathologische aandoening.

30 De termen "behandelen", "behandeling" en "behande-
 lend" omvatten preventieve (b.v. profylactische) en pal-
 liatieve (b.v. helende of curatieve) behandeling of be-
 handeling van het verschaffen van de preventieve of pal-
 liatieve behandeling.

35 De verbindingen met formule (I) kunnen asymmetrische
 of chirale centra bevatten en derhalve voorkomen in ver-

schillende stereoisomere vormen. Er wordt bedoeld dat alle stereoisomere vormen van de verbindingen en prodrugs met formule (I), alsmede mengsels daarvan, waaronder racemische mengsels, deel van de onderhavige uitvinding 5 vormen. Bovendien omvat de onderhavige uitvinding alle geometrische en positionele isomeren. Als bijvoorbeeld een verbinding of prodrug met formule (I) een dubbele binding (dubbele bindingen) omvat, worden zowel de cis- als trans-vormen, alsmede mengsels daarvan, omvat binnen 10 de omvang van de uitvinding.

Diastereomere mengsels kunnen worden gescheiden in hun afzonderlijke diastereomeren op basis van hun fysisch-chemische verschillen met behulp van de vakman algemeen bekende methoden, zoals door chromatografie en/of 15 fractionele kristallisatie. Enantiomeren kunnen worden gescheiden door het enantiomere mengsel om te zetten in een diastereomeer mengsel door reactie met een geschikte optisch actieve verbinding (b.v. alcohol), de diastereomeren te scheiden en de afzonderlijke diastereomeren om 20 te zetten (b.v. hydrolyseren) in de overeenkomstige zuivere enantiomeren.

De verbindingen en prodrugs volgens de uitvinding met formule (I) kunnen voorkomen in ongesolvateerde alsmede gesolvateerde vormen met farmaceutisch aanvaardbare 25 oplosmiddelen, zoals water, ethanol en dergelijke, en er wordt bedoeld dat de uitvinding zowel gesolvateerde als ongesolvateerde vormen omvat.

Het is ook mogelijk dat de verbindingen en prodrugs met formule (I) kunnen voorkomen als tautomere isomeren 30 in evenwicht en al dergelijke vormen worden omvat binnen de omvang van de uitvinding.

De onderhavige uitvinding omvat ook isotoop-gelabelde verbindingen met formule (I), welke identiek zijn aan de hierin aangehaalde, behalve voor het feit dat één of 35 meer atomen zijn vervangen door een atoom met een atoom-massa of massagetal verschillend van de atoommassa of het

massagetal gewoonlijk gevonden in de natuur. Voorbeelden van isotopen die kunnen worden opgenomen in verbindingen met formule (I) omvatten isotopen van respectievelijk waterstof, koolstof, stikstof, zuurstof, fosfor, fluor en 5 chloor, zoals ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{36}F en ^{36}Cl . De verbindingen met formule (I), de prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbaar zouten van de verbindingen en prodrugs, die de hiervoor genoemde isotopen en/of andere isotopen van de andere atomen bevatten, zijn be-
10 doeld binnen de omvang van de onderhavige uitvinding te zijn.

Bepaalde isotoop-gelabelde verbindingen met formule (I) bijvoorbeeld die verbindingen waarin radioactieve isotopen zoals ^3H en ^{14}C zijn opgenomen, zijn nuttig in
15 verbinding en/of substraatweefselverdelingsassays. Getritieerde, d.w.z. ^3H en koolstof-14, d.w.z. ^{14}C , isotopen hebben bijzondere voorkeur voor hun relatieve gemak van bereiding en gemakkelijke detectie. Verder kan substitutie met zwaardere isotopen zoals deuterium, d.w.z. ^2H ,
20 bepaalde therapeutische voordelen leveren resulterend uit grotere metabole stabiliteit, bijvoorbeeld verlengde in vivo halfwaardetijd of verminderde doseringsvereisten, en kunnen derhalve de voorkeur hebben onder sommige omstandigheden. De isotoop-gelabelde verbindingen met formule
25 (I) kunnen in het algemeen worden bereid door procedures uit te voeren analoog aan die beschreven in de Schema's en/of Voorbeelden hieronder vermeld, door een isotoop-gelabeld reagens te substitueren voor een niet-isotoop-gelabeld reagens.

30 In een ander aspect verschaft de uitvinding werkwijzen voor het behandelen van PDE 2-gemedieerde aandoeningen, ziekten of symptomen bij een zoogdier die een dergelijke behandeling nodig heeft, welke werkwijzen omvatten het toedienen aan het zoogdier van een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een verbinding met formule (I),
35 een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar

zout van de verbinding of prodrug, of een farmaceutisch preparaat omvattende een verbinding met formule (I), een prodrug daarvan, of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van de verbinding of prodrug en een farmaceutisch aanvaardbaar vehikel, drager of verdunningsmiddel.

Voorkeursomstandigheden, ziekten of symptomen behandelbaar volgens de onderhavige werkwijzen omvatten osteoporose, long hoge bloeddruk, vrouwelijke seksuele opwindingsaandoening, verminderd geheugen of cognitie, plaatesaggregatie, vasculaire angiogenese, dementie, kanker, 10 aritmie, trombose, botbreuk en/of defect, vertraagde of niet-vereniging breuk, ruggengraatfusie, botingroei, craniale gezichtsreconstructie of hypoxie. Een aandoening met bijzondere voorkeur is botbreuk en/of defect.

15 In een ander aspect verschaft de uitvinding werkwijzen voor het remmen van PDE 2 activiteit bij een zoogdier dat een dergelijke remming nodig heeft, welke werkwijzen omvatten het toedienen aan het zoogdier van een PDE 2 remmende hoeveelheid van een verbinding met formule (I), 20 een prodrug ervan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van de verbinding of prodrug, of een farmaceutisch preparaat omvattende een verbinding met formule (I), een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van de verbinding of prodrug, en een farmaceutisch aanvaardbaar vehikel, drager of verdunningsmiddel. 25

De verbindingen met formule (I), de prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbare zouten van de verbindingen en prodrugs kunnen worden toegediend aan een zoogdier in doseringsniveaus in het traject van ongeveer 0,001 mg 30 tot ongeveer 200 mg per dag. Voor een normaal volwassen mens een lichaamsmassa van ongeveer 70 kg heeft een dosering in het traject van ongeveer 0,01 mg tot ongeveer 100 mg per kg lichaamsmassa in het algemeen de voorkeur, maar enige variabiliteit in het algemene doseringstraject kan 35 vereist zijn afhankelijk van de leeftijd en massa van de patiënt die wordt behandeld, de bedoelde route van toe-

diening, de bepaalde verbinding die wordt toegediend, en dergelijke. De bepaling van doseringstrajecten en optimale doseringen voor een bepaalde zoogdierpatiënt is binnen het vermogen van de vakman die voordeel van de onderhavige beschrijving.

In nog een ander aspect verschaft de uitvinding farmaceutische preparaten omvattende een combinatie van een PDE 2 remmer, een EP₂ selectieve agonist; en een farmaceutisch aanvaardbaar vehikel, drager of verdunningsmiddel; en werkwijzen voor het behandelen van osteoporose, long hoge bloeddruk, vrouwelijke seksuele opwindingsaandoening, verminderd geheugen of cognitie, plaatjesaggregatie, vasculaire angiogenese, dementie, kanker, arritmie, trombose, botbreuk en/of defect, vertraagde of niet-
15 eenheidsbreuk, ruggengraatfusie, botingroei, craniale gezichtsreconstructie of hypoxie met behulp van dergelijke samenstellingen. Een aandoening met bijzondere voorkeur is botbreuk en/of defect.

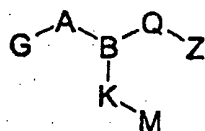
In nog een ander aspect verschaft de uitvinding
20 werkwijzen voor het behandelen van botbreuk en/of defect bij een zoogdier die een dergelijke behandeling nodig heeft, welke werkwijzen omvatten het toedienen aan het zoogdier van een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een PDE 2 remmer, een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde remmer of prodrug.
25

Elke PDE 2 remmer, waaronder de verbindingen met formule (I) hierin, kan worden toegepast bij de werkwijzen en combinaties volgens de uitvinding. Voorbeelden van bekende PDE 2 remmers omvatten EHNA, 6-(3,4-dimethoxybenzyl)-1-[(1-hydroxy-ethyl)-4-fenyl-butyl]-3-methyl-1,5-dihydro-pyrazool[3,4-d]pyrimidin-4-on (BAY-60-7550; Amerikaans Octrooischrift Nr. 6.174.884) en 9-(1-acetyl-4-fenyl-butyl)-2-(3,4-dimethoxybenzyl)-1,9-dihydropurin-6-on (Amerikaans Octrooischrift Nr. 5.861.396). Additionele
35 voorbeelden van PDE 2 remmers worden beschreven in Amerikaanse Octrooischriften Nrs. 5.861.396; 5.401.774;

6.458.796 en 6.555.547 en in PCT Internationale Aanvraag Publicatie Nr. 98/32755.

Elke EP₂ selectieve receptoragonist kan worden toegepast in de combinatieaspecten van de onderhavige uitvinding, maar een categorie die in het algemeen de voorkeur heeft van EP₂ selectieve receptoragonisten beschreven in gemeenschappelijk toegewezen Amerikaans Octrooi-schrift Nr. 6.498.172, omvat verbindingen met formule AA

10



15

Formule AA

prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbare zouten daarvan, waarbij G, A, B, K, M, Q en Z zijn zoals daarin
20 gedefinieerd.

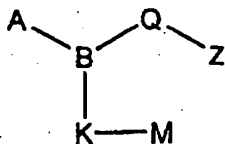
Verbindingen die in het algemeen de voorkeur hebben met formule AA zijn (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-pyrimidin-5-yl-benzyl)-amino)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((5-fenylfuran-2-ylmethyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-pyrimidin-2-yl-benzyl)amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-thiazol-2-yl-benzyl)amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((4-pyrazin-2-yl-benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((4-cyclohexyl-benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur; (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-pyridin-2-yl-benzyl)amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur; (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-pyridin-3-yl-benzyl)amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur; (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-pyridin-4-yl-benzyl)amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur; (3-(((pyridine-3-sulfonyl)-(4-thiazol-2-yl-benzyl)amino)-

methyl)-fenoxy)-azijnzuur; 5-(3-((pyridine-3-sulfonyl)-
 (4-thiazol-2-yl-benzyl)amino)-propyl)-thiofeen-2-carbon-
 zuur; (3-(((2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylmethyl)-
 (pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; en
 5 (3-((benzofuran-2-ylmethyl-(pyridine-3-sulfonyl)-)amino)-
 methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((4-butyl-benzyl)-(pyridi-
 ne-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-
 ((benzeensulfonyl-(4-butyl-benzyl)-amino)-methyl)-fenyl)-
 azijnzuur; (3-(((4-butyl-benzyl)-(1-methyl-1H-imidazool-
 10 4-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenyl)-azijnzuur; en (3-(((4-
 dimethylamino-benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-
 methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((4-dimethylamino-benzyl)-
 (pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur;
 en (3-(((4-tert-butyl-benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-
 15 amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur; trans-(3-(((3-(3,5-
 dichloor-fenyl)-allyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-
 methyl)-fenyl)-azijnzuur; (3-(((2-(3,5-dichloor-fenoxy)-
 ethyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenoxy)-
 azijnzuur; prodrugs daarvan en farmaceutisch aanvaardbare
 20 zouten van de verbindingen en de prodrugs.

Een verbinding met bijzondere voorkeur met formule A
 is (3-(((4-tert-butyl-benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-
 amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur, een prodrug daarvan of
 een farmaceutisch aanvaardbaar zout van de verbinding of
 25 prodrug. Een zout met bijzondere voorkeur is het natrium-
 zout.

Een andere categorie die in het algemeen de voorkeur
 heeft van EP₂ selectieve receptoragonisten toepasbaar in
 de combinatieaspecten van de uitvinding omvat de verbin-
 30 dingen, prodrugs en farmaceutisch aanvaardbare zouten met
 Formule BB hieronder, welke worden besproken in gemeen-
 schappelijk toegewezen Amerikaans Octrooischrift Nr.
 6.288.120

5



Formule BB

10 Waarbij A, B, K, M, Q en Z zijn zoals daarin gedefini-
eerd.

Verbindingen die in het algemeen de voorkeur hebben
met Formule BB zijn 7-[(2'-hydroxymethyl-bifenyl-4-
ylmethyl)-methaansulfonyl-amino]-heptaanzuur; 7-[(4-(3-
15 thiofen-2-yl)-benzyl)-methaansulfonyl-amino]-heptaanzuur;
7-[(2'-chloor-bifenyl-4-ylmethyl)-methaansulfonyl-amino]-
heptaanzuur; 7-[(4-(1-hydroxy-hexyl-benzyl)-methaansulfo-
nyl-amino)-heptaanzuur; 7-[(5-(1-hydroxy-hexyl)-thiofen-
2-ylmethyl)-methaansulfonyl-amino]-heptaanzuur; 3-[[4-
20 butyl-benzyl)-methaansulfonyl-amino]-methyl]-fenyl)-
azijnzuur; 7-[[3-(3-chloor-fenyl)-propyl]-methaansulfo-
nyl-amino]-heptaanzuur; 7-[[3-(3,5-dichloor-fenyl)pro-
pyl]-methaansulfonyl-amino]-heptaanzuur; 5-(3-[[3-(3-
chloorfenyl)-propyl]-methaansulfonyl-amino-propyl)-thio-
25 feen-2-carbonzuur; 5-(3-[[2-(3,5-chloorfenoxy)-ethyl]-
methaansulfonyl-amino-propyl)-thiofeen-2-carbonzuur; N-
[2-(3,5-dichloorfenoxy)-ethyl]-N-[6-(1H-tetrazol-5-yl)-
hexyl]-methaansulfonamide; trans-(4-[[3-(3,5-dichloor-
fenyl)-allyl]-methaansulfonyl-amino)-butoxy)-azijnzuur;
30 trans-N-[3-(3,5-dichloorfenyl)-allyl]-N-[6-(1H-tetrazo-
lyl-5-yl)-hexyl]-methaansulfonamide; trans-5-(3-(3,5-
dichloorfenyl)-allyl)-methaansulfonyl-amino)-propyl)-
thiofeen-2-carbonzuur; trans-[3-([3-(3,5-dichloorfenyl)-
allyl]-methaansulfonyl-amino)-methyl]-fenyl)-azijnzuur;
35 de prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbare zou-
ten van de verbindingen en prodrugs.

Een verbinding met bijzondere voorkeur met Formule BB is 7-[(4-butyl-benzyl)-methaansulfonyl-amino]heptaan-
zuur, een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaard-
baar zout van de verbinding of prodrug. Een voorkeurszout
5 is het mononatriumzout.

Andere EP₂ selectieve receptoragonisten toepasbaar
in de combinatieaspecten van de onderhavige uitvinding
omvatten de prostaglandine receptoragonisten beschreven
in Amerikaanse Octrooischriften Nrs. 6.531.485;
10 6.376.533; 6.1214.314; 5.877.211; 5.716.835; 5.698.598 en
5.462.968; Amerikaanse gepubliceerde Octrooiaanvraag Nr.
2002/187961; N. Duckworth, c.s., Journal of Endocrinolo-
gy, 172 (2), 263-269 (2002); K. Tani, c.s., Synlett, 2,
239-242 (2002); K. Tani, c.s., Bioorganic & Medicinal
15 Chemistry, 10 (4), 1107-1114 (2002); K. Tani, c.s., Bio-
organic & Medicinal Chemistry, 10 (4), 1093-1106 (2002);
J. Michelet, c.s., EP 1.175.891 A1; K. Tani, c.s. Bioor-
ganic & Medicinal Chemistry Letters, 11, (15), 2025-2028
(2001); J.Y. Crider, c.s., International Journal of Envi-
20 ronmental Studies, 58 (1), 35-46 (2000); J.Y. Crider,
c.s., Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 17
(1), 35-46 (2001); D.F. Woodward, c.s., Journal of Ocular
Pharmacology and Therapeutics, 11 (3), 447-54 (1995);
A.T. Nials, c.s., Cardiovascular Drug Reviews, 11 (2),
25 165-79 (1993); en D.F. Woodward, c.s., Prostaglandins,
46, (4), 371-83 (1993).

In de combinatieaspecten van de uitvinding kunnen de
EP₂ selectieve receptoragonisten worden toegediend aan
zoogdieren in doseringsniveaus variërend van ongeveer
30 0,001 mg/kg tot ongeveer 100 mg/kg massa per dag. Voor
een normaal volwassen mens die een lichaamsmassa van on-
geveer 70 kg heeft, heeft een dosering in het traject van
ongeveer 0,01 mg/kg tot ongeveer 50 mg/kg lichaamsmassa
in het algemeen de voorkeur, maar enige variabiliteit in
35 het algemene doseringstraject kan vereist zijn afhanke-
lijk van de leeftijd en massa van de patiënt die wordt

behandeld, de bedoelde route van toediening, de bepaalde verbinding die wordt toegediend, en dergelijke. De bepaling van combinatiedoseringstrajecten en optimale doseringen voor een bepaalde zoogdierpatiënt is binnen het 5 vermogen van de vakman met voordeel van de onderhavige beschrijving.

Farmaceutische preparaten geschikt voor parenterale injectie kunnen farmaceutisch aanvaardbare steriele waterige of niet-waterige oplossingen, dispersies, suspensies 10 of emulsies, en steriele poeders voor onvoorbereid opnieuw samenstellen tot steriele injecteerbare oplossingen of dispersies omvatten. Voorbeelden van geschikte waterige en niet-waterige dragers, vehikels en verdunningsmiddelen omvatten water, ethanol, polyolen (zoals propyleen- 15 glycol, polyethyleenglycol, glycerol, en dergelijke), geschikte mengsels daarvan, plantaardige oliën (zoals olijfolie) en injecteerbare organische esters zoals ethyloleaat. Geschikte vloeibaarheid kan bijvoorbeeld worden gehandhaafd door de toepassing van een bekleding 20 zoals lecithine, door het handhaven van de vereiste deeltjesgrootte in het geval van dispersies, en door de toepassing van oppervlakteactieve stoffen.

De farmaceutische preparaten volgens de uitvinding kunnen verder adjuvanten omvatten, zoals conserveer-, be- 25 vochtigings-, emulgeer- en disperseermiddelen. Preventie van verontreinigingen van micro-organismen van de onderhavige preparaten kan worden bewerkstelligd met diverse antibacteriële en antischimmelmiddelen, bijvoorbeeld parabens, chloorbutanol, fenol, sorbinezuur, en dergelijke. 30 Het kan ook gewenst zijn om isotone middelen op te nemen, bijvoorbeeld suikers, natriumchloride, en dergelijke. Langdurige absorptie van injecteerbare farmaceutische preparaten kan worden bewerkstelligd door de toepassing van middelen in staat tot het vertragen van absorptie, 35 bijvoorbeeld aluminiummonostearaat en gelatine.

Vaste doseringsvormen voor orale toediening omvatten capsules, tabletten, poeders en granules. In dergelijke vaste doseringsvormen wordt de actieve verbinding gemengd met ten minste één inert conventioneel farmaceutisch excipiënt (of drager) zoals natriumcitraat of dicalciumfosfaat, of (a) vulmiddelen of uitbreidingsmiddelen, zoals bijvoorbeeld zetmelen, lactose, sucrose, mannitol en kiezelzuur; (b) bindmiddelen, zoals bijvoorbeeld carboxymethylcellulose, alginaten, gelatine, polyvinylpyrrolidon, sucrose en acacia; (c) humectanten, zoals bijvoorbeeld glycerol; (d) desintegratiemiddelen, zoals bijvoorbeeld agar-agar, calciumcarbonaat, aardappel- of tapiocazetmeel, alginezuur, bepaalde complexen silicaten en natriumcarbonaat; (e) oplossingsvertragers, zoals bijvoorbeeld paraffine; (f) absorptieversnellers, zoals bijvoorbeeld quaternaire ammonium verbindingen; (g) bevochtigingsmiddelen, zoals bijvoorbeeld cetylalcohol en glycerolmonostearaat; (h) adsorbentia, zoals bijvoorbeeld kaolien en bentoniet; en/of (i) smeermiddelen, zoals bijvoorbeeld talk, calciumstearaat, magnesiumstearaat, vaste polyethyleenglycolen, natriumlaurylsulfaat of mengsels daarvan. In het geval van capsules en tabletten kunnen de doseringsvormen verder buffermiddelen omvatten.

Vaste preparaten van een vergelijkbaar type kunnen ook worden toegepast als vulmiddelen in zachte of hard gevulde gelatinecapsules met behulp van zulke excipiënten als lactose of melksuiker, alsmede hoogmoleculaire polyethyleenglycolen, en dergelijke.

Vaste doseringsvormen zoals tabletten, dragees, capsules en granules kunnen worden bereid met bekledingen en mantels, zoals enterische bekledingen en andere, de vakman algemeen bekend. Deze kunnen ook ondoorzichtig maken de middelen omvatten en kunnen ook een zodanige samenstelling hebben dat deze de actieve verbinding(en) afgeven op een vertraagde, onderhouden of geregelde wijze. Voorbeelden van het inbedden van samenstellingen die kun-

nen worden toegepast zijn polymere substanties en wassen. De actieve verbinding(en) kan/kunnen ook in micro-ingespselde vorm zijn, indien geschikt, met één of meer van de hierboven genoemde excipiënten.

5 Vloeibare doseringsvormen voor orale toediening omvatten farmaceutisch aanvaardbare emulsies, oplossingen, suspensies, stropen en elixers. Behalve de actieve verbindingen kunnen de vloeibare doseringsvormen inerte verdunningsmiddelen bevatten, gebruikelijk toegepast in de
10 techniek zoals water of andere oplosmiddelen, oplosbaar makende middelen en emulgatoren, zoals bijvoorbeeld ethylalcohol, isopropylalcohol, ethylcarbonaat, ethylacetaat, benzylalcohol, benzylbenzoaat, propyleenglycol, 1,3-butyleenglycol, dimethylformamide, oliën, in het bij-
15 zonder katoenzaadolie, pindaolie, maïskiemolie, olijfolie, castorolie en sesamzaadolie, glycerol, tetrahydrofurfurylalcohol, polyethyleenglycolen en vetzuuresters van sorbitan of mengsels van deze substanties, en dergelijke.

20 Behalve dergelijke inerte verdunningsmiddelen kan het farmaceutische preparaat ook adjuvanten omvatten, zoals bevochtigingsmiddelen, emulgeer- en suspendeermiddelen, zoet-, smaak- en parfumeringsmiddelen.

Suspensies kunnen, behalve de actieve verbinding(en)
25 verder suspendeermiddelen omvatten, zoals bijvoorbeeld geëthoxyleerde isostearylalcoholen, polyoxyethyleensorbitol- en sorbitanesters, microkristallijne cellulose, aluminiummetahydroxide, bentoniet, agar-agar en tragacanth of mengsels van de hiervoor genoemde substanties, en der-
30 gelijke.

Preparaten voor rectale of vaginale toediening omvatten bij voorkeur zetpillen, welke kunnen worden bereid door het mengen van een actieve verbinding (actieve verbindingen) met geschikte niet-irriterende excipiënten of
35 dragers zoals cacaoboter, polyethyleenglycol of een zetpilwas, welke vast zijn bij gebruikelijke kamertempera-

tuur, maar vloeibaar bij lichaamstemperatuur en derhalve smelten in het rectum of vaginale holte en daardoor het actieve bestanddeel afgeven.

Doseringsvormen voor topische toediening kunnen zal-
5 ven, poeders, sprays en inhaleringsmiddelen omvatten. Het actieve middel (de actieve middelen) wordt/worden gemengd onder steriele omstandigheden met een farmaceutisch aanvaardbare drager, vehikel of verdunningsmiddel, en alle conserveermiddelen, buffers of drijfmiddelen die vereist
10 kunnen zijn.

Een samenstelling die in het algemeen de voorkeur heeft voor het toedienen van PDE 2 remmers, waaronder de verbindingen met formule (I) alsmede de combinaties omvattende PDE 2 remmers en EP₂ selectieve receptoragonis-
15 ten bij de behandeling van botbreuken, omvat een injecteerbaar, vloeibaar preparaat dat onderhouden afgifte verschaft op een lokale plaats van injectie door het vormen van een bio-afbreekbaar vast of gel depot, matrix of implantaat. Een voorbeeld van een dergelijk toedienings-
20 systeem omvat een langzame afgifte, bio-afbreekbaar polymeer-gebaseerd afleveringssysteem. Zie bijvoorbeeld Amerikaans gepubliceerde Octrooiaanvraag Nr. 2003-0104031 A1.

Een dergelijk polymeer-gebaseerd afleveringssysteem omvat in het algemeen een therapeutisch nuttig middel
25 (therapeutisch nuttige middelen) opgelost of gedispergeerd in een vloeibare, bio-afbreekbare, thermoplastische polymeeroplossing of dispersie in een organisch oplosmiddel. Na injectie van het preparaat diffundeert het organische oplosmiddel weg van de injectieplaats en veroor-
30 zaakt dat het polymeer precipiteert of geleert, waardoor het middel (de middelen) worden gevangen in een onderhouden afgiftedepot. Het middel (de middelen) wordt/worden vervolgens afgegeven door diffusie uit en erosie van de polymere matrix. De matrix erodeert langzaam door hydro-
35 lyse en verdwijnt uiteindelijk van de plaats van toediening. Het molecuulgewicht en de concentratie van het po-

lymeer kan de in vivo afgifte van het middel (de middelen) regelen alsmede de afbraaksnelheid van de matrix.

Het polymeer-gebaseerde afleveringssysteem verschaft onderhouden afgifte van een actief middel (actieve middelen) in vivo gedurende een onderhouden tijdsperiode met minimale of verminderde uitbarsting bij een patiënt die dit nodig heeft. Een grote uitbarsting van middel(en) zou resulteren in slechts lokale tolerantie tengevolge van lokale effecten (b.v. irritatie) en zou de hoeveelheid middel(en) beschikbaar voor werkzaamheid minimaliseren. Het voordeel dat deze toedieningsmethode biedt, is dat deze de aanvankelijke uitbarsting minimaliseert of vermindert maar nog altijd het middel (de middelen) aflevert op werkzame niveaus voor onderhouden tijdsperiodes na een enkelvoudige lokale injectie.

Het polymere systeem wordt bereid door de vloeibare samenstelling in contact te brengen met een geleringsmedium om de samenstelling te coaguleren of te geleren tot een vaste, microporeuze polymere matrix of een gelpolymerematrix. De vloeibare samenstelling bevat een thermoplastisch polymeer of copolymeer in combinatie met een geschikt oplosmiddel. De polymeren of copolymeren welke het lichaam van de matrix vormen, zijn in hoofdzaak onoplosbaar, bij voorkeur in hoofdzaak volledig onoplosbaar in water en lichaamsvloeistoffen. De onoplosbaarheid van het matrixlichaam maakt mogelijk dat dit fungeert als een enkelvoudige plaats voor de geregelde afgifte van het middel (de middelen). De polymeren of copolymeren zijn ook bio-verenigbaar en bio-afbreekbaar en/of bio-erodeerbaar in het lichaam van een dier, b.v. zoogdier. De bio-afbraak maakt mogelijk dat de patiënt de polymere matrix zodanig metaboliseert en uitscheidt dat er geen noodzaak is voor chirurgische verwijdering. Omdat de vloeibare samenstelling en het polymeersysteem bioverenigbaar zijn, veroorzaakt de invoegingswerkwijze en de aanwezigheid van het polymere systeem in het lichaam geen

aanzienlijke weefselirritatie of necrose op de implantaatplaats. De samenstelling volgens de onderhavige uitvinding wordt toegediend als een vloeibare samenstelling direct in lichaamsweefsels.

- 5 Geschikte thermoplastische polymeren voor opname in de vaste matrix van het geregelde-afgiftesysteem zijn vaste stoffen farmaceutisch verenigbare en bio-afbreekbaar door cellulaire werking en/of door de werking van lichaamsvloei-
stoffen. Voorbeelden van geschikte ther-
10 moplastische polymeren omvatten polyesters van diolen en dicarbonszuren of van hydroxycarbonszuren, zoals polylactiden, polyglycoliden en copolymeren daarvan. Met meer voorkeur omvat het polymeer het copolymeer poly-melk-co-glycolzuur (afgekort PLGH) dat, na hydrolyse, melk- en
15 glycolzuur produceert. De uitbarsting van afgifte van dit copolymeer kan verder worden geminimaliseerd door de toevoeging van polyethyleenglycol (PEG) om het PEG-eindgekapte PLGH te vormen.

Voorkeursmaterialen omvatten polylactiden, polygly-
20 coliden en copolymeren daarvan. Deze polymeren kunnen met voordeel worden toegepast in het polymeersysteem gedeeltelijk omdat deze uitstekende bioverenigbaarheid vertonen. Ze produceren weinig of geen weefselirritatie, ontsteking, necrose of toxiciteit. In aanwezigheid van water
25 produceren de polymeren melk- en glycolzuur, respectievelijk, welke gemakkelijk worden gemetaboliseerd. De polylactiden kunnen ook glycolidemonomeer omvatten om de resulterende polymere afbraak te versterken. Deze polymeren hebben ook de voorkeur, omdat deze de snelheid van
30 afgifte van middel(en) uit het polymere systeem effectief regelen en omdat deze resulteren in de lokale retentie van het middel (de middelen) op de plaats van de plaats van toediening.

De oplosbaarheid of mengbaarheid van een thermoplas-
35 tisch polymeer in het organische oplosmiddel van het preparaat zal variëren afhankelijk van factoren zoals kris-

talliniteit, hydrofiliciteit, capaciteit voor waterstofbinding en het molecuulgewicht van het polymeer. Dientengevolge worden het molecuulgewicht en de concentratie van het polymeer in het oplosmiddel bijgesteld om gewenste
5 mengbaarheid te bereiken, alsmede een gewenste afgiftesnelheid voor het opgenomen middel (de opgenomen middelen).

De vloeibare samenstelling van thermoplastisch polymeer, oplosmiddel en het middel (de middelen) omvat een
10 stabiele vloeibare substantie. Een homogene oplossing van het middel (de middelen) in een organisch oplosmiddel resulteert bij voorkeur. Het thermoplastische polymeer is in hoofdzaak oplosbaar in het organische oplosmiddel. Na plaatsing van de vloeibare samenstelling in het lichaam
15 dissipeert het oplosmiddel en stolt het of geleert het polymeer om het polymere systeem te vormen met het middel (de middelen) in een vaste of gelpolymere matrix.

Voor bepaalde voorkeurspolymeren wordt het molecuulgewicht van het polymeer of copolymeer bijgesteld tot in
20 het een traject van ongeveer 0,2 tot ongeveer 0,4 inherente viscositeit I.V. in deciliter/g) voor effectieve onderhouden afgifte van de botgroei bevorderende verbinding. De typerende snelheid van afgifte van het opgenomen middel (de opgenomen middelen) treedt op bij een I.V. van
25 ongeveer 0,2 (ongeveer 8.000 tot ongeveer 16.000 molecuulgewicht) of ongeveer 0,3 (ongeveer 23.000 tot ongeveer 445.000 molecuulgewicht), maar kan variëren afhankelijk van de bepaalde bestanddelen van de samenstelling. Voor de meeste systemen heeft het de voorkeur om het mo-
30 lecuulgewicht van het polymeer bij te stellen tot ongeveer 0,2 I.V. voor een effectieve onderhouden afgifte van het middel (de middelen).

Voor een poly(DL-lactide) of een lactide-co-glycolide polymeersysteem is het gewenste molecuulgewichtstra-
35 ject ongeveer 0,2 tot ongeveer 0,4 I.V., waarbij een I.V. van ongeveer 0,2 de voorkeur heeft. Het molecuulgewicht

van een polymeer kan worden gemodificeerd met behulp van conventionele methoden.

Commercieel verkrijgbare thermoplastische polymeren met bijzondere voorkeur omvatten de volgende: PLGH copolymeer met 1:1 verhouding van melk- en glycolzuur met een inherente viscositeit van ongeveer 0,2 dl/g (commercieel verkrijgbaar bij Boehringer Ingelheim als Copolymer RESOMER® RG 502 H) (ongeveer 12.000 molecuulgewicht); PLGH copolymeer met 1:1 verhouding van melk- en glycolzuur met een inherente viscositeit van ongeveer 0,3 dl/g (commercieel verkrijgbaar bij Boehringer Ingelheim als Copolymer RESOMER® RG 503 H) (ongeveer 37.000 molecuulgewicht); PLGH copolymeer met 1:1 verhouding van melk- en glycolzuur met een inherente viscositeit van ongeveer 0,4 dl/g (commercieel verkrijgbaar bij Boehringer Ingelheim als Copolymer RESOMER® RG 504 H) (ongeveer 47.000 molecuulgewicht) en polyethyleenglycol (PEG) eind-gekapt PLGH copolymeer met 1:1 verhouding van melk- en glycolzuur met een inherente viscositeit van ongeveer 0,79 dl/g (commercieel verkrijgbaar bij Boehringer Ingelheim als PLG-PEG) (ongeveer 52.000 molecuulgewicht).

De oplosmiddelen toegepast bij de thermoplastische preparaten zijn bij voorkeur farmaceutisch aanvaardbaar, bio-verenigbaar en zullen dissiperen in lichaamsvloeistof in situ zodanig dat deze kunnen worden geclassificeerd als hebbende een oplosbaarheid in water variërend van zeer oplosbaar tot onoplosbaar. Bij voorkeur veroorzaken deze weinig of geen weefselirritatie of necrose op de plaats van injectie en implantatie. Bij voorkeur zal het oplosmiddel ten minste een minimale mate van wateroplosbaarheid hebben. Als het organische oplosmiddel wateronoplosbaar of minimaal oplosbaar in water is, zal het oplosmiddel langzaam dispergeren uit de vloeibare polymere samenstelling. Het resultaat zal een implantaat zijn dat, tijdens het verloop van de levensduur ervan, variërende hoeveelheden overblijvend oplosmiddel kan bevatten. Bij

voorkeur heeft het organische oplosmiddel een matige tot hoge mate van wateroplosbaarheid zodat dit gemakkelijk uit de polymere samenstelling in lichaamsvloeistoffen zal dispergeren. Met de meeste voorkeur disperseert het oplosmiddel snel uit de polymere samenstellingen om snel een vast implantaat te vormen. Gelijktijdig met de dispersie van oplosmiddel coaguleert of geleert het thermoplastische polymeer tot het vaste polymere systeem. Bij voorkeur veroorzaakt, als het thermoplastische polymeer coaguleert, de oplosmiddeldispersie porievorming in het polymeersysteem. Als resultaat zal de vloeibare samenstelling die thermoplastisch polymeer, oplosmiddel en middel(en) bevat een poreus vast polymeersysteem vormen. Ook kan, als het oplosmiddel enigszins wateroplosbaar is, of wateronoplosbaar is, de oplosmiddeldispersie resulteren in de vorming van een vast poreus implantaat, of als enig oplosmiddel met het implantaat blijft, kan het resultaat vorming van een gelimplantaat met weinig of geen poriën zijn.

20 Geschikte oplosmiddelen omvatten die vloeibare organische verbindingen die voldoen aan de voorgaande criteria. Een oplosmiddel dat in het algemeen de voorkeur heeft omvat N-methyl-2-pyrrolidon (NMP).

De oplosmiddelen voor de thermoplastisch polymeer vloeibare samenstellingen worden gekozen voor verenigbaarheid en geschikte oplosbaarheid van het polymeer en oplosmiddel. Laagmoleculaire thermoplastische polymeren zullen gewoonlijk gemakkelijker oplossen in de oplosmiddelen dan hoogmoleculaire polymeren. Als resultaat verschilt de concentratie van een thermoplastisch polymeer opgelost in de diverse oplosmiddelen afhankelijk van het type polymeer en het molecuulgewicht ervan. Omgekeerd zullen de hoogmoleculaire thermoplastische polymeren de neiging hebben sneller te coaguleren, geleren of stollen dan de zeer laagmoleculaire thermoplastische polymeren. Bovendien hebben de hoogmoleculaire polymeren de neiging

hogere oplossingsviscositeiten te geven dan de laagmoleculaire materialen. Derhalve worden, voor voordelige injectie-efficiëntie, behalve voordelige afgiftesnelheid, het molecuulgewicht en de concentratie van het polymeer 5 in het oplosmiddel geregeld.

Na vorming van het polymeersysteem uit de vloeibare samenstelling wordt/worden het middel (de middelen) opgenomen in de polymeermatrix. Na invoegen van de vloeibare samenstelling om het polymere systeem te vormen, wordt/ 10 worden het middel (de middelen) uit de matrix afgegeven in de aangrenzende weefsels of vloeistoffen door diffusie en afbraakmechanismen. Manipulatie van deze mechanismen kan ook afgifte van het middel (de middelen) in de omgeving met een geregelde snelheid beïnvloeden. Bijvoorbeeld 15 kan de polymere matrix worden geformuleerd om af te breken, nadat een effectieve en/of aanzienlijke hoeveelheid van het middel (de middelen) uit de matrix is afgegeven. Derhalve kan afgifte van het middel (de middelen) uit de matrix worden gevarieerd door, bijvoorbeeld, de oplos- 20 baarheid van het middel (de middelen) in water, de verdeling van de botgroei bevorderende verbinding in de matrix, of de grootte, vorm, porositeit, oplosbaarheid en bio-afbreekbaarheid van de polymeermatrix, onder andere factoren. De afgifte van het middel (de middelen) uit de 25 matrix wordt geregeld ten opzichte van de inherente snelheid ervan door het variëren van het polymeer molecuulgewicht om een gewenste duur en snelheid van afgifte te verschaffen.

Bijvoorbeeld omvat een voorkeursdoseringsvorm van 30 het middel (de middelen) een lyofiel dat opnieuw moet worden samengesteld met een oplossing van PLGH in NMP voorafgaande aan toediening. De doseringsvorm, bestaande uit de gelyofiliseerde verbinding in één injectiespuit (injectiespuit A) en een oplossing van PLGH in NMP in een 35 tweede injectiespuit (injectiespuit B) is bekend als het A/B samenvoegsysteem. De inhoud van beide injectiespuiten

wordt met elkaar vermengd onmiddellijk voorafgaande aan dosisafl levering op of nabij de plaats. Na opnieuw samenstellen wordt de inhoud overgebracht in een van maatverdeling voorziene doseerinjectiespuit voor aflevering. De 5 toegediende doseringsvormen zullen een oplossing vormen en zullen resulteren in de dispersie van de verbinding van PLGH in NMP in gewenste sterkten van, bijvoorbeeld, 5 en 50 mgA/ml (mgA/ml betreft het vrije zuurequivalent van de natriumzoutvorm van het middel (de middelen)). De do- 10 seringsvorm is een parenterale (b.v. subcutane, intramusculaire of intramedulaire) onderhouden afgifte injectie voor lokale toediening. Deze verbinding in een langzame afgifte polymeermatrix (depotinjectie) is ontworpen voor toediening op of nabij een plaats, en is niet bedoeld 15 voor intraveneuze toediening. Om adequate opslag levensduurstabiliteit voor de doseringsvorm te verschaffen, kan een 2-injectiespuitsysteem (A/B), zoals hierboven beschreven, worden toegepast, bij voorkeur met de natriumzoutvorm van de verbinding. Een éénfaseformulering, bij 20 voorkeur met de vrije zuurvorm van de verbinding, is een alternatieve formulering die de voorkeur heeft. Gebaseerd op het middel (de middelen) en polymeerstabieliteit kan steriele filtratie van het middel (de middelen) en bestraling van de polymeeroplossing de voorkeur hebben voor 25 het bereiden van een stabiel steriel product. In één uitvoeringsvorm kan de doseringvorm worden bereid en verscheept als afzonderlijke aluminium zakjes die injectiespuiten bevatten gevuld met de lyofiele vorm van het middel (de middelen) in één zakje en de polymeeroplossing in 30 het andere zakje. Afleveringshouders, systemen en werkwijzen voor de lyofilisatie van botgroei bevorderende verbindingen wordt beschreven in gepubliceerde PCT Internationale Octrooiaanvraag Publicatie Nr. WO 01/73363. Andere werkwijzen van toediening omvatten lokale toediening 35 door injectie aan een bepaalde plaats van aflevering door een katheter aan een plaats. Additionele voorbeelden kun-

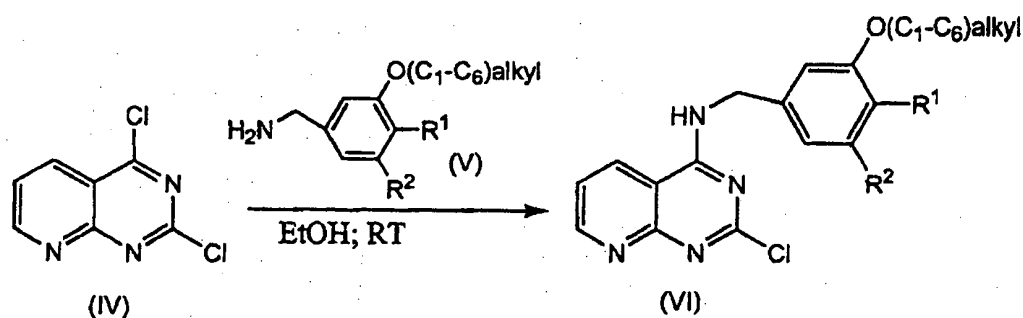
nen worden gevonden in Amerikaanse Voorlopige Aanvraag Nr. 60/335.156, ingediend op 30 november 2001.

De beschrijvingen van alle hierin beschreven Amerikaanse Octrooischriftnummers worden door verwijzing in hun 5 geheel hierin opgenomen.

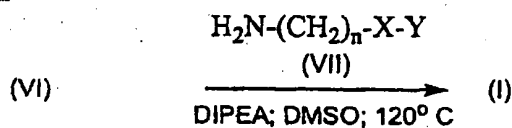
De verbindingen met formule (I), de prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbaar zouten van de verbindingen en prodrugs kunnen worden bereid door de illustrerende synthetische routes beschreven in de onderstaande 10 Schema's en Voorbeelden, alsmede met behulp van andere conventionele organische preparatieve werkwijzen, bekend of duidelijk in het licht van de onderhavige beschrijving, voor de vakman in de relevante techniek. De werkwijzen beschreven in de onderhavige Schema's zijn bedoeld 15 voor illustreren van de onderhavige uitvinding en dienen niet op enigerlei wijze te worden geconstrueerd als beperkingen daarop.

Schema 1

STAP 1



STAP 2



In Schema 1, Stap 1 wordt 2,4-dichloor-pyrido[2,3-d]pyrimidine (IV) in reactie gebracht met een geschikt gesubstitueerd benzylamine (V) in aanwezigheid van een tri-gesubstitueerde aminebase, zoals triethylamine (TEA) of diisopropylethylamine (DIPEA) of een aromatische base zoals pyridine. De reactie wordt in het algemeen bewerkstelligd in een polair alcoholisch oplosmiddel, zoals methanol (MeOH), ethanol (EtOH) of isopropanol (IPA), bij een temperatuur variërend van ongeveer 0°C tot ongeveer 100°C. Bij voorkeur wordt de reactie uitgevoerd in aanwezigheid van DIPEA in ethanol bij ongeveer kamertemperatuur (RT). In Stap 2 wordt het resulterende condensatieproduct (VI) vervolgens in reactie gebracht met een geschikt gesubstitueerd amine (VII) in aanwezigheid van een tri-gesubstitueerde aminebase, zoals TEA of DIPEA of een aromatische base, zoals pyridine om een verbinding (I) te leveren. De reactie wordt in het algemeen bewerkstelligd in een polair aprotisch oplosmiddel, zoals N,N-dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide (DMSO), N-methylpyrrolidinon of sulfolaan, bij een verhoogde temperatuur variërend van ongeveer 60°C tot ongeveer 250°C. Bij voorkeur wordt de reactie bewerkstelligd in aanwezigheid van DIPEA in DMSO tussen ongeveer 90°C tot ongeveer 120°C.

Alhoewel Schema 1 is afgebeeld als een afzonderlijke tweestapswerkwijze waarbij tussenproduct (VI) wordt geïsoleerd en vervolgens in reactie gebracht met amine (VII), is het ook geschikt gevonden om (IV) in situ te bereiden en te laten reageren met amine (VII) in een enkelvoudige stap. In een dergelijke werkwijze wordt een aprotisch oplosmiddel, bij voorkeur DMSO toegepast. Deze reactie wordt ook bewerkstelligd in aanwezigheid van DIPEA in DMSO bij een temperatuur tussen ongeveer 90°C tot ongeveer 120°C,

PREPARATIEF EXPERIMENTEEL

Tenzij anderszins opgemerkt, werden alle toegepaste reagentia commercieel verkregen. Tenzij anderszins opgemerkt hebben de volgende experimentele afkortingen de aangegeven betekenissen:

- AcOH - azijnzuur
- Dec - ontleding
- DMAP - 4-dimethylaminopyridine
- 10 EtOAc - ethylacetaat
- hr - uur
- LAH - lithiumaluminiumhydride
- min - minuut (minuten)
- MS - massaspectrometrie
- 15 NMR - kernmagnetische resonantie
- THF - tetrahydrofuran
- p-TsOH -p-tolueensulfonzuur

Bereiding 1

20

(2-Chloor-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-(3,5-dimethoxybenzyl)-amine

Aan een geroerde oplossing van 2,4-dichloorpyrido-
 25 [2,3-pyrimidine) 1,3 g, 6,7 mmol) en 3,5-dimethoxybenzylamine (1,1 g, 6,7 mmol) in 30 ml EtOH werd bij kamertemperatuur TEA (4 ml, 28,7 mmol) toegevoegd. Een precipitaat werd gevormd dat werd afgefiltreerd en gewassen met koude EtOH gevolgd door hexanen en gaf 1,8 g van de
 30 titelverbinding (82%) als een vaste stof. Smeltpunt 185°C (ontl.).

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 9,5 (t, 1H), 8,9 (dd, 1H), 8,7 (dd, 1H), 7,5 (m, 1H), 6,5 (d, 2H), 6,4 (t, 1H), 4,6 (d, 2H), 3,7 (s, 6H). MS (m/z, %): 331 (100).

35

Bereiding 2(2-chloor-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-(3,4-dimethoxy-benzyl)-amine

5

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die beschreven in Bereiding 1 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 9,5 (t, 1H), 8,9 (dd, 1H), 8,7 (dd, 1H), 7,0 (s, 1H), 6,9 (d, 2H), 4,6 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 3,7 (s, 3H). MS (m/z, %): 331 (100).

Bereiding 315 2-(4-Aminomethyl-fenyl)-propan-2-ol

Aan een geroerde oplossing van 4-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)-benzonitril (2,0 g, 12,4 mmol) in 30 ml THF werd bij 0°C druppelsgewijs 1,0 N LAH in THF (26 ml, 26,1 mmol) toegevoegd. Men liet het mengsel opwarmen tot kamertemperatuur, en het werd vervolgens 0 min. onder terugvloeiakoeling gekookt. Het mengsel werd vervolgens afgekoeld tot 0°C en geblust met 5 ml MeOH druppelsgewijs toegevoegd. Het mengsel werd verdund met 300 ml chloroform en gewassen met water (1 x 80 ml), gedroogd boven magnesiumsulfaat en geconcentreerd en gaf 1,9 g (95%) van de titelverbinding als een vaste stof.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,45 (d, 2H), 7,26 (d, 2H), 3,83 (s, 2H), 1,57 (s, 6H). GC-MS (m/e, %): 164 (M⁺, 15), 150 (80), 132 (75), 106 (100).

Bereiding 43-(4-Acetyl-fenyl)-propionitril

5 Een mengsel van 4-(2-broomethyl)acetofenon (2,0 g, 8,8 mmol) en KCN (0,6 g, 8,8 mmol) in 30 ml DMSO werd 4 uur verwarmd tot 75°C. Het mengsel werd verdund met water en geëxtraheerd met EtOAc. Het organische extract werd achtereenvolgens gewassen met water en pekkel, gedroogd en
 10 geconcentreerd en gaf een olie. Chromatografie over silicagel eluerend met 40% EtOAc/hexanen gaf 0,8 g van een olie.

¹H-NMR (CD₃OD) δ: 7,9 (d, 2H), 7,4 (d, 2H), 3,3 (t, 2H), 2,8 (t, 2H), 2,6 (s, 3H). GC-MS (m/e, %): 173 (M⁺, 20),
 15 158 (100).

Bereiding 53-[4-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)-fenyl]-propionitril

20

Aan een geroerde oplossing van 3 M methylmagnesium-chloride in THF (3,3 ml, 9,8 mmol), verder verdund met 10 ml THF, werd druppelsgewijs een oplossing van 3-(4-acetyl-fenyl)-propionitril (0,7 g, 3,9 mmol) in 10 ml THF
 25 bij -40°C toegevoegd. Men liet het reactiemengsel langzaam gedurende de nacht opwarmen tot kamertemperatuur, dit werd afgekoeld tot 0°C, vervolgens geblust met waterige AcOH druppelsgewijs toegevoegd. Het reactiemengsel werd verdund en geëxtraheerd met EtOAc. Het organische
 30 extract werd achtereenvolgens gewassen met water en pekkel, gedroogd en geconcentreerd en gaf 0,8 g van een olie.

¹H-NMR (CD₃OD) δ: 7,4 (d, 2H), 7,2 (d, 2H), 2,9 (t, 2H), 2,7 (t, 2H), 1,5 (s, 6H). GC-MS (m/e, %): 189 (M⁺, 5),
 35 174 (100).

Bereiding 62-[4-(3-Aminopropyl)-fenyl]-propan-2-ol

5 Aan een geroerde oplossing van 1 M LAH in THF, verder verdund met 20 ml THF, werd bij 0°C druppelsgewijs een oplossing van 3-[4-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)-fenyl]-propionitril (0,8 g, 4,0 mmol) in 10 ml THF toegevoegd. Men liet de reactie langzaam opwarmen tot kamertempera-
 10 tuur, vervolgens werd deze 4 uur onder terugvloei-koeling gekookt. Het reactiemengsel werd vervolgens afgekoeld tot 0°C en geblust met MeOH langzaam druppelsgewijs toegevoegd. Het mengsel werd verdund met chloroform en gewassen met water. Het organische extract werd gefiltreerd
 15 door diatomeeënaarde, het filtraat geconcentreerd, vervolgens verdund met ethylacetaat, gedroogd en geconcentreerd en gaf 0,5 g van een olie.

¹H-NMR (CD₃OD) δ: 7,4 (d, 2H), 7,1 (d, 2H), 2,6 (m, 4H), 1,7 (m, 2H), 1,5 (s, 6H). MS (m/e, %): 194 (M⁺ + 1, 100), 20 176 (90).

Bereiding 73-[4-(2-Methyl-[1,3]dioxolan-2-yl)-fenyl]-propionitril

25

Een mengsel van 3-(4-acetylphenyl)propionitril (2,2 g, 13 mmol), ethyleenglycol (2,8 ml, 51 mmol) en een katalytische hoeveelheid p-TsOH (~200 mg) in 100 ml toluen werd 18 uur onder terugvloei-koeling gekookt over een De-
 30 an-Stark val. Het mengsel werd verdund met EtOAc en achtereenvolgens gewassen met 5% natriumbicarbonaatoplossing, water en pekkel, gedroogd (MgSO₄) en geconcentreerd en gaf een olie. Chromatografie over silicagel eluerend met EtOAc/hexaanoplossing gaf 2,5 g van een olie.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 7,4 (d, 2H), 7,2 (d, 2H), 4,0 (m, 2H), 3,8 (m, 2H), 2,9 (t, 2H), 2,6 (t, 2H), 1,6 (s, 3H). MS (m/e, %): 216 (M^+ - 1, 1), 202 (100).

5 Bereiding 8

2-[4-(2-Methyl[1,3]dioxolan-2-yl)-fenyl]-propylamine

Aan een geroerde oplossing van 3-[4-(2-methyl-
10 [1,3]dioxolan-2-yl)-fenyl]-propionitril (2,4 g, 11 mmol) in 30 ml THF werd druppelsgewijs een oplossing van 1 M LAH in THF toegevoegd. Men liet het mengsel opwarmen tot kamertemperatuur, vervolgens werd dit 1 uur onder terugvloeikoeling gekookt. Het mengsel werd afgekoeld tot 0°C,
15 vervolgens geblust met MeOH druppelsgewijs toegevoegd. Het mengsel werd verdund met chloroform en gewassen met water. De resulterende suspensie werd gefiltreerd door diatomeeënaarde en de filtraatlagen gescheiden. Het organische extract werd gedroogd boven MgSO_4 en geconcen-
20 treerd en gaf 2,4 g van een olie.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,4 (m, 2H), 7,1 (d, 2H), 4,0 (m, 2H), 3,8 (m, 2H), 2,7 (m, 2H), 2,6 (m, 2H), 1,7 (m, 2H), 1,6 (s, 3H). MS (m/e, %): 221 (M^+ , 10), 206 (60), 189 (100).

25 Bereiding 9

2,2,2-Trifluor-1-(4-joodfenyl)-ethanol

Aan een geroerde oplossing van 4-joodbenzaldehyde
30 (2,0 g, 8,6 mmol) in 20 ml THF werd bij kamertemperatuur 0,5 M oplossing van trimethyl(trifluormethyl)silaan in THF (19 ml, 9,5 mmol) toegevoegd, gevolgd door tetra-
butylammoniumfluoride (112 mg, 0,4 mmol). Het mengsel werd gedurende de nacht bij kamertemperatuur geroerd, ge-
35 goten in 0,1 N chloorwaterstofzuur en geëxtraheerd met EtOAc. Het organische extract werd op zijn beurt gewassen

me water en pekkel, gedroogd (MgSO_4) en geconcentreerd en gaf 2,6 g van een olie.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,7 (m, 2H), 7,2 (d, 2H), 5,0 (m, 1H), 2,7 (d, 1H). MS (m/e, %): 302 (M^+ , 100), 233 (100).

5

Bereiding 10

2-{3-[4-(2,2,2-Trifluor-1-hydroxy-ethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion

10

Aan een geroerde suspensie van 2,2,2-trifluor-1-(4-joodfenyl)-ethanol (2,6 g, 8,5 mmol), N-propargyl-ftalimide (1,6 g, 8,5 mmol), dichloorbis(trifenylfosfine)palladium (298 mg, 0,43 mmol) en koper(I)jodide (82 15 mg, 0,43 mmol) in 20 ml THF werd bij kamertemperatuur 5 ml TEA toegevoegd. Het mengsel werd kort ontlucht onder een stroom stikstof en vervolgens 6 uur onder terugvloei-koeling gekookt. Het mengsel werd verdund met chloroform, gewassen met water, gedroogd boven MgSO_4 en geconcen- 20 treerd en gaf een vaste stof. De vaste stof werd gewreven met EtOAc en leverde 2,2 g van een vaste stof.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,9 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,5 (d, 2H), 7,4 (d, 2H), 5,0 (m, 1H), 4,7 (s, 2H). MS (m/e, %): 359 (M^+ , 100).

25

Bereiding 11

2-{3-[4-(2,2,2-Trifluor-1-hydroxy-ethyl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion

30

Een mengsel van 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxy-ethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (2,2 g, 6,1 mmol) en 10% Pd/C (220 mg) in 150 ml EtOH en 150 ml THF werd bij kamertemperatuur in een Parr-apparaat 2 uur ge- 35 schud onder 50 psi waterstof. Een additionele 220 mg 10% Pd/C werd toegevoegd en het mengsel bij kamertemperatuur

gedurende een additionele 2 uur geschud onder 50 psi waterstof. Een additionele 220 mg 10% Pd/C werd vervolgens toegevoegd en het mengsel bij kamertemperatuur gedurende de nacht geschud onder psi waterstof. Het mengsel werd 5 gefiltreerd door diatomeeënaarde en het filtraat geconcentreerd om een olie te geven. Chromatografie over silica gel eluerend met EtOAc/hexanen leverde 1,8 g van een olie.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,3 (d, 2H), 10 7,2 (d, 2H), 4,9 (m, 1H), 3,7 (t, 2H), 2,7 (t, 2H), 2,0 (m, 2H). MS (m/e, %): 363 (M⁺, 15), 345 (35), 325 (50), 161 (100).

Bereiding 12

15

1-[4-(3-Aminopropyl)-fenyl]-2,2,2-trifluorethanol

Aan een geroerde suspensie van 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl-fenyl)-propyl]-isoindool-1,3-dion (1,8 g, 5,0 mmol), in 50 ml MeOH werd bij kamertemperatuur 20 tuur hydrazinehydraat (0,46 ml, 15,0 mmol) toegevoegd. Het mengsel werd 18 uur bij kamertemperatuur geroerd. Het reactiemengsel werd gefiltreerd en het filtraat geconcentreerd en gaf een olie. De olie werd gewreven met chloroform, gefiltreerd en het filtraat geconcentreerd en gaf 25 1,0 g van een olie.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,3 (d, 2H), 7,2 (d, 2H), 5,0 (m, 1H), 2,6 (m, 2H), 2,5 (m, 2H), 1,6 (m, 2H). MS (m/e, %): 363 (M⁺, 10), 216 (100).

Bereiding 13Trifluormethaansulfonzuurbenzo[1,2,5]oxadiazol-5-ylester

5 Aan een geroerde oplossing van 5-hydroxybenzofurazan (1,8 g, 13,0 mmol), TEA (2,4 ml, 33,0 mmol) en DMAP (79 mg, 7,0 mmol) in 40 ml dichloormethaan werd bij -78°C druppelsgewijs een oplossing van trifluormethaansulfonzuuranhydride (2,8 ml, 17,0 mmol) in 10 ml dichloorme-
 10 thaan toegevoegd. Men liet het mengsel langzaam gedurende 3 uur opwarmen tot kamertemperatuur, dit werd verdund met dichloormethaan en gewassen met water. Het organische extract werd gedroogd en geconcentreerd en gaf een olie. Chromatografie over silicagel eluerend met dichloorme-
 15 thaan leverde 3,1 g van een olie.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 8,09 (dd, 1H), 7,8 (dd, 1H), 7,3 (dd, 1H). MS (m/e, %): 268 (M⁺, 60), 146 (60), 69 (100).

Bereiding 14

20

2-(Benzo[1,2,5]oxadiazol-5-yl-prop-2-ynyl)-isoindool-1,3-dion

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan
 25 die in Bereiding 10 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 8,2 (s, 1H), 8,0 (dd, 1H), 7,9 (m, 2H), 7,8 (m, 2H), 7,5 (dd, 2H), 4,7 (s, 2H). MS (m/e, %): 303 (M⁺, 100).

30

Bereiding 152-(3-Benzo[1,2,5]oxadiazol-5-yl-propyl)-isoindool-1,3-dion

5

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 11 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 3H), 7,6 (s, 1H), 10 7,2 (m, 1H), 3,8 (t, 3H), 2,8 (t, 2H), 2,1 (m, 2H). MS (m/e, %): 307 (M⁺, 40), 290 (30), 272 (20), 160 (100).

Bereiding 1615 3-Benzo[1,2,5]oxadiazol-5-yl-propylamine

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 12 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.

20 ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 7,9 (m, 2H), 7,7 (m, 1H), 7,5 (m, 1H), 2,7 (m, 2H), 2,5 (m, 2H), 1,7 (m, 2H). MS (m/e, %): 177 (M⁺, (40), 160 (100).

Bereiding 17

25

Trifluormethaansulfonzuurbenzothiazol-6-ylester

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 13 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.

30 ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 9,1 (s, 1H), 8,2 (d, 1H), 7,9 (d, 1H), 7,4 (dd, 1H). MS (m/e, %): 283 (M⁺, 80), 150 (100).

Bereiding 182-(3-Benzo[1,2,5]oxadiazol-5-yl-propyl)-isoindool-1,3-dion

5

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 10, waarbij trifluormethaansulfonzuur-benzothiazol-6-ylester (Bereiding 17) werd gesubstitueerd voor 2,2,2-trifluor-1-(4-joodfenyl)-ethanol.

10 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ : 9,4 (s, 1H), 8,3 (d, 1H), 8,0 (d, 2H), 7,9 (m, 1H), 7,8 (m, 2H), 7,5 (dd, 1H), 4,6 (s, 2H). MS (m/e, %): 318 (M^+ , 100).

Bereiding 19

15

2-(3-Benzothiazol-6-yl-propyl)-isoindool-1,3-dion

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 11, waarbij 2-(3-benzathiazol-6-yl-prop-2-ynyl)-isoindool-1,3-dion (Bereiding 19) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (Bereiding 10).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8,9 (s, 1H), 8,0 (d, 1H), 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,3 (dd, 1H), 3,8 (t, 2H), 2,8 (t, 2H), 2,1
25 (m, 2H). MS (m/e, %): 322 (M^+ , 80), 174 (40), 162 (100).

Bereiding 203-Benzothiazol-6-yl-propylamine

30

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 12, waarbij 2-(3-benzathiazol-6-yl-prop-2-ynyl)-isoindool-1,3-dion (Bereiding 20) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (Bereiding 11).

MS (m/e, %): 192 (M^+ , 20), 175 (100).

Bereiding 212-(3-Joodfenyl)-2-methyl-[1,3]dioxolaan

5

Een mengsel van 3-joodacetofenon (3,0 g, 12 mmol), ethyleenglycol (2,7 ml, 48 mmol) en p-tolueensulfonzuur (30 mg) in 50 ml tolueen werd 18 uur onder een Dean-Stark val onder terugvloeikoeling gekookt. Het mengsel werd 10 verdund met EtOAc en achtereenvolgens gewassen met 5% natriumbicarbonaat oplossing, water en pekkel, gedroogd boven MgSO_4 en geconcentreerd en gaf een olie. Chromatografie over silicagel eluerend met EtOAc/hexanen gaf 3,1 g van een olie.

15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,8 (m, 1H), 7,6 (dd, 1H), 7,4 (dd, 1H), 7,0 (m, 1H), 4,0 (m, 2H), 3,7 (m, 2H), 1,6 (s, 2H). MS (m/e, %): 290 (M^+ , 20), 275 (100).

Bereiding 22

20

2-{3-[3-(2-Methyl-[1,3]dioxolan-2-yl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan 25 die in Bereiding 10, waarbij 2-(3-joodfenyl)-2-methyl-[1,3]dioxolaan (Bereiding 21) werd gesubstitueerd voor (2,2,2-trifluor-1-(4-joodfenyl)-ethanol.

30 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,9 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,5 (s, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,3 (m, 1H), 7,2 (m, 1H), 4,7 (s, 2H), 4,0 (m, 2H), 3,7 (m, 2H), 1,6 (s, 6H). MS (m/e, %): 347 (M^+ , 15), 332 (100).

Bereiding 232-{3-[3-(2-methyl-[1,3]dioxolan-2-yl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion

5

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 11, waarbij 2-{3[3-(2-methyl-[1,3]-dioxolan-2-yl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (Bereiding 22) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-
10 trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (bereiding 10).

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,2 (m, 4H), 7,1 (d, 1H), 4,0 (m, 2H), 3,7 (m, 4H), 2,6 (t, 2H, 2,0 (m, 2H), 1,6 (s, 3H). MS (m/e, %): 351 (M⁺, 5), 336
15 (100).

Bereiding 243-[3-(2-Methyl-[1,3]dioxolan-2-yl)-fenyl]-propylamine

20

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 12, waarbij 2-{3[3-(2-methyl-[1,3]-dioxolan-2-yl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion (Bereiding 23) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-tri-
25 fluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,3 (m, 3H), 7,1 (dd, 1H), 4,0 (m, 2H), 3,8 (m, 2H), 2,6 (t, 2), 1,8 (m, 2H), 1,6 (s, 3H). MS (m/e, %): 221 (M⁺, 20), 206 (60), 189 (100).

30 Bereiding 252-(3-Joodfenyl)-propan-2-ol

Aan een geroerde oplossing van methylmagnesiumchloride (65 mmol) in 100 ml THF werd bij 0°C druppelsgewijs
35 3-joodacetofenon (4,0 g, 16,3 mmol) toegevoegd. Het reac-

tiemengsel liet men opwarmen tot kamertemperatuur en werd vervolgens afgekoeld tot 0°C en een additioneel equivalent methylmagnesiumchloride werd toegevoegd. Men liet het mengsel opwarmen tot kamertemperatuur en dit werd 5 uur geroerd. Het reactiemengsel werd geblust met MeOH, verdund met water, aangezuurd met ijsazijn en geëxtraheerd met dichloormethaan. Het organische extract werd gewassen met 5% natriumbicarbonaatoplossing, vervolgens geconcentreerd. Chromatografie over silicagel eluerend met dichloormethaan gaf een olie die stolde na staan.

MS (m/e, %): 262 (M⁺, 80), 247 (100).

Voorbeeld 26

15 2-{3-[3-(1-Hydroxy-1-methylethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 10, waarbij 2-{3-joodfenyl}-propan-2-ol (Bereiding 25) werd gesubstitueerd voor 2,2,2-trifluor-1-(4-joodfenyl)-ethanol (bereiding 10).

MS (m/e, %): 319 (M⁺, 90), 301 (80), 160 (100).

Bereiding 27

25

2-{3-[3-(1-Hydroxymethylethyl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 11, waarbij 2-{3[3-(1-hydroxy-1-methylethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (Bereiding 26) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (bereiding 10).

35 MS (m/e, %): 305 (M⁺-H₂O, 80), 145 (100).

Bereiding 282-[3-(3-Aminopropyl)-fenyl]-propan-2-ol

5 Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 12, waarbij 2-{3[3-(1-hydroxy-1-methylethyl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion (Bereiding 27) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion (berei-
 10 ding 10).

MS (m/e, %): 193 (M⁺, 30), 162 (60), 145 (100).

Bereiding 29

15 4-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-prop-1-ynyl]-benzonitril

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 10 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.
 20

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7,8 (m, 6H), 7,6 (d, 2H), 4,6 (s, 2H).

MS (m/e, %): 286 (M⁺, 100).

Bereiding 30

25

4-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propyl]-benzonitril

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 11, waarbij 4-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-prop-1-ynyl]-benzonitril (Bereiding 27) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-prop-2-ynyl}-isoindool-1,3-dion (bereiding 10).
 30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,8 (dd, 2H), 7,7 (dd, 2H), 7,5 (d, 2H), 7,3 (d, 2H), 3,7 (t, 2H), 2,0 (m, 2H). MS (m/e, %): 290 (M^+ , 60), 161 (100).

5 Bereiding 31

4-(3-Aminopropyl)-benzonitril

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan 10 die in Bereiding 12, waarbij 4-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propyl]-benzonitril (Bereiding 30) werd gesubstitueerd voor 2-{3-[4-(2,2,2-trifluor-1-hydroxyethyl)-fenyl]-propyl}-isoindool-1,3-dion (bereiding 10).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,5 (d, 2H), 7,3 (d, 2H), 2,7 (m, 4H), 1,8 (m, 2H). MS (m/e, %): 160 (M^+ , 20), 143 (100).

Bereiding 32

2-Chloor-3,4-dimethoxybenzaldehyde-oxim

20

Een mengsel van 2-chloor-3,4-dimethoxybenzaldehyde (1,5 g, 7,5 mmol), hydroxylamine hydrochloride (650 mg, 9,4 mmol) en natriumacetaat (1,5 g, 18,8 mmol) in 30 ml MeOH en 15 ml water werd 18 uur verwarmd tot 65°C. Het 25 mengsel werd verdund met water en geëxtraheerd met EtOAc. Het organische extract werd achtereenvolgens gewassen met water en pekkel, gedroogd boven MgSO_4 en geconcentreerd en gaf 1,7 g van een vaste stof.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8,5 (s, 1H), 7,6 (d, 1H), 6,8 (d, 1H), 30 3,9 (s, 3H), 3,8 (s, 3H). MS (m/e, %): 215 (M^+ , 40), 199 (100).

Bereiding 332-Chloor-3,4-dimethoxybenzylamine

5 Aan een geroerde oplossing van het product van Bereiding 32 (1,7 g, 7,8 mmol) in 40 ml THF werd bij 0°C langzaam druppelsgewijs in 1 M oplossing van LAH in THF (17 ml, 17 mmol) toegevoegd. Men liet het mengsel langzaam opwarmen tot kamertemperatuur en dit werd vervolgens
 10 2 uur onder terugvloeikoeling gekookt. Het mengsel werd afgekoeld tot 0°C en de reactie geblust met MeOH langzaam druppelsgewijs toegevoegd. Het mengsel werd verdund met water en geëxtraheerd met chloroform. De resulterende emulsie werd gefiltreerd door diatomeeënaarde en de fil-
 15 traatlagen gescheiden. Het organische extract werd gewassen met water, gedroogd (MgSO₄) en geconcentreerd en gaf 1,1 g van een olie. MS (m/e, %): 202 (M⁺, 100).

Bereiding 34

20

3-Ethoxy-4-methoxybenzaldehyde-oxim

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 32 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.
 25

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 8,1 (s, 16H), 7,2 (d, 1H), 7,0 (m, 1H), 6,8 (d, 1H), 4,1 (q, 2H), 3,9 (s, 3H), 1,5 (t, 3H). MS (m/e, %): 195 (M⁺, 100).

30 Bereiding 353-Ethoxy-4-methoxybenzaldehydeamine

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan die in Bereiding 33 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.
 35

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8,1 (s, 16H), 6,9 (s, 1H), 6,8 (s, 2H), 4,1 (q, 2H), 3,8 (s, 2H), 1,5 (t, 3H). MS (m/e, %): 181 (M^+ , 100).

5 Bereiding 36

2-(3-Pyridin-4-yl-propyl)-isoindool-1,3-dion

Aan een geroerde oplossing van 4-pyridinepropanol
 10 (2,0 g, 14,5 mmol), ftaalimide (2,1 g, 14,5 mmol) en tri-
 fenylfosfine (4,9 g, 15,2 mmol) in 50 ml THF werd bij 0°C
 druppelsgewijs diethylazodicarboxylaat (2,5 ml, 16,0
 mmol) toegevoegd. Men liet het mengsel langzaam opwarmen
 tot kamertemperatuur en dit werd vervolgens gedurende de
 15 nacht geroerd. Het mengsel werd verdund met 0,1 N chloor-
 waterstofzuur en gewassen met diethylether. Het waterige
 extract werd basisch gemaakt met 6 N natriumhydroxide en
 geëxtraheerd met EtOAc. Het organische extract werd ge-
 wassen met 1 N natriumhydroxide en water, gedroogd boven
 20 MgSO_4 en geconcentreerd en gaf 1,8 g van een vaste stof.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8,5 (s, 2H), 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 2H),
 7,2 (m, 2H), 3,7 (t, 2H), 2,7 (t, 2H), 2,0 (m, 2H).

Bereiding 37

25

3-Pyridin-4-yl-propylamine

Deze verbinding werd bereid op een wijze analoog aan
 die in Bereiding 12 met behulp van de titelverbinding van
 30 Bereiding 36.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8,4 (m, 2H), 7,1 (m, 2H), 2,7 (t, 2H),
 2,6 (t, 2H), 1,8 (m, 2H). MS (m/e, %): 136 (M^+ , 30), 119
 (35), 107 (100).

De verbindingen met formule (I) werden bereid zoals
 35 beschreven in de volgende Voorbeelden.

Voorbeeld 1N⁴-(3,5-Dimethoxybenzyl)-N²-(2-pyridin-2-yl-ethyl)-pyrido-[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

5

Een mengsel van de titelverbinding van Bereiding 1 (174 mg, 0,5 mmol), 2-(2-aminoethyl)-pyridine (386 mg, 3,2 mmol) en DIPEA (0,2 ml, 1,1 mmol) in 1 ml DMSO werd 18 uur verwarmd tot 90°C. Het mengsel werd in water gegoten en geëxtraheerd met methyleenchloride. Het organische extract werd gewassen met pekkel, gedroogd boven MgSO₄ en geconcentreerd. De resulterende rest werd gewreven met EtOAc en gaf 83 mg (40%) van de titelverbinding. Smeltpunt 157-8°C.

15 ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 8,6 (dd, 1 H), 8,5 (d, 1H), 8,4 (dd, 1H), 7,7 (m, 1H), 7,2 (m, 1H), 7,0 (m, 2H), 6,5 (m, 2H), 6,3 (m, 1H), 4,6 (m, 2H), 3,7 (s, 6H), 3,6 (m, 2H), 3,0 (m, 2H). MS (m/z, %): 417 (100).

Analyse berekend voor C₂₃H₂₄N₆O₂: C, 66,3; H, 5,8; N, 20,2.

20 Gevonden: C, 65,3; H, 6,3; N, 18,3.

De verbindingen van Voorbeelden 2 tot 5 werden bereid op een wijze analoog aan die beschreven in Voorbeeld 1 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen.

25 Voorbeeld 2N⁴-(3,5-dimethoxybenzyl)-N²-(2-pyridin-2-yl-ethyl)-pyrido-[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

30 Smeltpunt 185-6°C.

Analyse berekend voor C₂₃H₂₄N₆O₂: C, 66,3; H, 5,8; N, 20,2.

Gevonden: C, 64,5; H, 5,6; N, 19,6.

Voorbeeld 3

N⁴-(3,5-dimethoxybenzyl)-N²-(2-pyridin-2-yl-ethyl)-pyrido-
[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

5

Smeltpunt 234-5°C.

Analyse berekend voor C₂₃H₂₄N₆O₂: C, 66,3; H, 5,8; N, 20,2.

Gevonden: C, 66,0; H, 5,6; N, 20,0.

10 Voorbeeld 4

N⁴-(3,5-dimethoxybenzyl)-N²-2-pyridin-3-ylmethyl-pyrido-
[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

15 Smeltpunt 223-3°C.

Analyse berekend voor C₂₂H₂₂N₆O₂: C, 65,7; H, 5,5; N, 20,9.

Gevonden: C, 65,5; H, 5,5; N, 20,8

Voorbeeld 5

20

N²-N⁴-Bis-(3,5-dimethoxybenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-
2,4-diamine

Smeltpunt 159-160°C.

25 Analyse berekend voor C₂₅H₂₇N₅O₄: C, 65,1; H, 5,9; N, 15,2.

Gevonden: C, 65,3; H, 5,9; N, 15,1.

Voorbeeld 630 N⁴-(3,5-Dimethoxybenzyl)-N²-[2-(4-methoxyfenyl)-ethyl]-
pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Een mengsel van de titelverbinding van Bereiding 1
(100 mg, 0,5 mmol), p-methoxyfenetylamine (89 µl, 0,61
35 mmol) en DIPEA (105 µl, 0,61 mmol) in 0,8 ml DMSO werd 18
uur verwarmd tot 90°C. De verbinding werd geïsoleerd en

gezuiverd van het ruwe reactiemengsel door directe injectie op een omgekeerde fase preparatieve HPLC (Shimadzu Corp.; Kyoto, Japan) met behulp van een stap gradiënt van acetonitril/water die 0,1% ammoniumhydroxide bevatte als een eluent. Fracties die het gewenste product bevatten, werden gecombineerd, geconcentreerd en de rest omgekristalliseerd uit IPA om 80 mg (60%) van de titelverbinding te geven. Smeltpunt 88-9°C.

Analyse berekend voor $C_{25}H_{27}N_5O_3$: C, 67,4; H, 6,1; N, 15,7.
 10 Gevonden: C, 67,0; H, 6,3; N, 15,2.

De verbindingen van Voorbeelden 7 tot 31 werden bereid op een wijze analoog aan die beschreven in Voorbeeld 6 met behulp van geschikte uitgangsmaterialen. Specifieke uitzonderingen op de toegepaste reactie- en/of zuivere ringsomstandigheden worden opgemerkt.

Voorbeeld 7

N^4 -(3,5-Dimethoxybenzyl)- N^2 -(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]-
 20 pyrimidine-2,4-diamine

1H -NMR (DMSO- d_6): δ 8,6 (dd, 1 H), 8,4 (d, 1H), 7,2 (m, br, 3H), 7,1 (m, br, 2H), 7,0 (m, br, 1H), 6,5 (s, br, 2H), 6,3 (s, br, 1H), 4,6 (m, br, 2H), 3,7 (s, br, 25 6H), 2,6 (m, br, 2H), 1,8 (m, br, 2H), 1,7 (m, br, 2. MS (m/z, %): 430 (100).

Voorbeeld 8

N^2 -[2-(4-Chloorfenyl)-ethyl- N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)-
 30 pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Smeltpunt 85-90°C.

Analyse berekend voor $C_{24}H_{24}N_5O_2Cl$: C, 64,1; H, 5,4; N, 35 15,6. Gevonden: C, 63,6; H, 5,7; N, 15,3.

Voorbeeld 9

N²-Benzyl-N⁴-(3,5-dimethoxybenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

5

Smeltpunt 84-85°C.

Analyse berekend voor C₂₃H₂₃N₅O₂: C, 68,8; H, 5,8; N, 17,4.

Gevonden: C, 68,5; H, 6,0; N, 17,4.

10 Voorbeeld 10

N⁴-(3,5-Dimethoxybenzyl)-N²-(2-thiofen-2-yl-ethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

15 Smeltpunt 120-1°C.

Analyse berekend voor C₂₂H₂₃N₆O₂S: C, 62,7; H, 5,5; N, 16,6. Gevonden: C, 62,2; H, 6,0; N, 15,6.

Voorbeeld 11

20

2-(4-{[4-(3,5-Dimethoxybenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-methyl}-fenyl)-propan-2-ol

Smeltpunt 105-9°C.

25 Analyse berekend voor C₂₆H₂₉N₅O₃: C, 68,0; H, 6,4; N, 15,2. Gevonden: C, 67,7; H, 6,6; N, 14,4.

Voorbeeld 12

30 N⁴-(3,5-Dimethoxybenzyl)-N²-2-fenethyl-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Smeltpunt 112-4°C.

Analyse berekend voor C₂₄H₂₅N₅O₂: C, 69,4; H, 6,1; N, 16,9.

35 Gevonden: C, 68,5; H, 6,9; N, 15,3.

Voorbeeld 13

N⁴-(3,5-Dimethoxybenzyl)-N²-[2-(3,5-dimethoxyfenyl)ethyl]-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

5

Smeltpunt 95-100°C.

Analyse berekend voor C₂₆H₂₉N₅O₄: C, 65,7; H, 6,2; N, 14,7.

Gevonden: C, 65,5; H, 6,6; N, 14,5.

10 Voorbeeld 14

N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-[2-(3-fluorfenyl)ethyl]-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

15 Smeltpunt 227-8°C.

Analyse berekend voor C₂₄H₂₄N₅O₂F: C, 66,5; H, 5,6; N, 16,2. Gevonden: C, 66,6; H, 5,6; N, 16,2.

Voorbeeld 15

20

N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-[2-(2-fluorfenyl)ethyl]-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Smeltpunt 220-2°C.

25 Analyse berekend voor C₂₄H₂₄N₅O₂F: C, 66,5; H, 5,6; N, 16,2. Gevonden: C, 66,4; H, 5,5; N, 16,1.Voorbeeld 1630 N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-[2-(4-fluorfenyl)ethyl]-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Smeltpunt 225-6°C.

35 Analyse berekend voor C₂₄H₂₄N₅O₂F: C, 66,5; H, 5,6; N, 16,2. Gevonden: C, 66,4; H, 5,6; N, 16,2.

Voorbeeld 17

N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-fenethyl-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

5

Smeltpunt 217-8°C.

Analyse berekend voor C₂₄H₂₄N₅O₂: C, 69,5; H, 6,1; N, 16,9.

Gevonden: C, 69,4; H, 6,0; N, 16,8.

10 Voorbeeld 18

N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-(4-fenylbutyl)-pyrido[2,3-d]-pyrimidine-2,4-diamine

15 Smeltpunt 194-5°C.

Analyse berekend voor C₂₆H₂₉N₅O₂: C, 70,4; H, 6,6; N, 15,8.

Gevonden: C, 70,5; H, 6,6; N, 15,9.

Voorbeeld 19

20

N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-(2-fenoxyethyl)-pyrido[2,3-d]-pyrimidine-2,4-diamine

Smeltpunt 227-8°C.

25 Analyse berekend voor C₂₄H₂₅N₅O₃: C, 66,8; H, 5,8; N, 16,2.

Gevonden: C, 66,7; H, 5,7; N, 16,2.

Bereiding 20

30 N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-(2-trifluormethylbenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Smeltpunt 227-8°C.

Analyse berekend voor C₂₄H₂₂N₅O₂F: C, 61,4; H, 4,7; N,

35 14,9. Gevonden: C, 60,6; H, 4,9; N, 14,8.

Voorbeeld 21

2-(4-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino-propyl]-fenyl)-propan-2-ol

5

Omgekeerde fase preparatieve HPLC-fracties die ruw gewenst product bevatten werden geconcentreerd en de rest werd omgekristalliseerd uit EtOAc.

Smeltpunt 198-9°C.

- 10 Analyse berekend voor $C_{28}H_{33}N_5O_3$: C, 69,0; H, 6,8; N, 14,4.
Gevonden: C, 68,7; H, 6,9; N, 14,3.

Voorbeeld 22

- 15 2-(4-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino-propyl]-fenyl)-propan-2-ol

(amorfe vaste stof) smeltpunt 70-5°C.

- $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 8,6 (dd, 1H), 8,4 (d, 1H), 7,3 (m, br, 2H), 7,1 (m, br, 2H), 7,0 (m, br, 2H), 6,5 (s, br, 2H), 6,3 (s, br, 1H), 4,6 (m, br, 2H), 3,7 (s, br, 6H), 2,6 (m, br, 6H), 2,6 (m, br, 2H), 1,8 (m, br, 2H), 1,7 (m, br, 2H), 1,4 (s, 6H). MS (m/z, %): 430 (100). MS (m/z): 488 ($M^+ + 1$, 100), 470 (50).

- 25 Analyse berekend voor $C_{28}H_{33}N_5O_2$: C, 69,0; H, 6,8; N, 14,4.
Gevonden: C, 67,1; H, 7,0; N, 12,1.

Voorbeeld 23

- 30 1-(4-{[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-methyl}-fenyl)-2,2,2-trifluorethanol

- Omgekeerde fase preparatieve HPLC-fracties die ruw gewenst product bevatten werden geconcentreerd en de rest werd omgekristalliseerd uit acetonitril/water.

Smeltpunt 121-2°C.

Analyse berekend voor $C_{25}H_{24}N_5O_3F_3$: C, 60,1; H, 4,8; N, 14,0. Gevonden: C, 58,0; H, 5,0; N, 13,4.

Voorbeeld 24

5

1-(4-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-ethanon

Het reactiemengsel wat ruw product bevatte, werd in water gegoten en het resulterende precipitaat werd afge-
filtreerd. De rest werd opgelost in 30 ml MeOH en 10 ml 1 N chloorwaterstofzuur werd toegevoegd. Het mengsel werd 4 uur bij kamertemperatuur geroerd, geconcentreerd, geneutraliseerd met 5% natriumbicarbonaatoplossing, en geëx-
traheerd met dichloormethaan. De organische extracten werden gecombineerd en gewassen met pekkel, gedroogd boven $MgSO_4$ en geconcentreerd. Het ruwe product werd gezuiverd met behulp van omgekeerde fase HPLC zoals beschreven in Voorbeeld 6. Fracties die gewenst product bevatten, werden gecombineerd, geconcentreerd en de rest omgekristalliseerd uit acetonitril/water om een vaste stof te leveren.

Smeltpunt 184-5°C.

Analyse berekend voor $C_{27}H_{29}N_5O_3$: C, 68,8; H, 6,2; N, 14,9.

25 Gevonden: C, 68,7; H, 6,0; N, 14,6.

Voorbeeld 25

1-(4-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-2,2,2-trifluorethanol

Smeltpunt 222-4°C.

1H -NMR ($DMSO-d_6$): 8,6 (dd, 1H), 8,4 (d, 1H), 7,4 (m, br, 2H), 7,3 (m, 1H), 7,0 (m, br, 2H), 6,8 (s, br, 2H), 6,7 (d, 1H), 5,0 (m, br, 1H), 4,6 (s, br, 2H), 3,7 (m, 6H), 3,3 (m, 2H), 2,6 (m, br, 6H), 2,6 (m, br, 2H), 1,8 (m,

br, 2H), 1,7 (m, br, 2H), 1,8 (m, br, 2H). MS (m/z, %): 528 (M⁺, 100).

Voorbeeld 26

5

N²-3-(Benzo[1,2,5]oxadiazol-5-yl-propyl)-N⁴-(3,4-dimethoxybenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Het product werd geïsoleerd door chromatografie over
10 silicagel eluerend met 2,5% MeOH in 2N ammonium/dichloormethaan en gaf een ruwe vaste stof. Wrijven met EtOAc leverde een vaste stof

¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,6 (dd, 1H), 8,4 (dd, 1H), 7,9 (m, br, 1H), 7,7 (m, 1H), 7,5 (m, br, 1H), 7,0 (m, br, 2H), 6,8
15 (m, 2H), 4,6 (m, br, 2H), 3,7 (m, 6H), 3,4 (m, 2H), 2,7 (m, br, 2H), 1,9 (m, br, 2H). MS (m/z, %): 472 (M⁺, 100).

Voorbeeld 27

20 N²-3-(Benzothiazol-6-yl-propyl)-N⁴-(3,4-dimethoxybenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Het product werd geïsoleerd door chromatografie over
silicagel eluerend met 2,5% MeOH in 2 N ammoniak/di-
25 chloormethaan om een ruwe vaste stof te geven. Smetpunt 191-3°C.

MS (m/z, %): 487 (M⁺, 100).

Analyse berekend voor C₂₆H₂₈N₆O₂S: C, 64,2; H, 5,4; N, 17,3. Gevonden: C, 64,5; H, 5,5; N, 16,8.

30

Voorbeeld 28

N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-{3-[3-(2-methyl-[1,3]-dioxo-
lan-2-yl)-fenyl]-propyl}-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-

5 diamine

¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,6 (d, 1H), 8,3 (d, 1H), 7,2 (m, br, 3H), 7,0 (m, br, 3H), 6,9 (m, br, 2H), 4,6 (m, br, 2H), 4,1 (m, 2H), 3,9 (m, 2H), 3,7 (m, br, 8H), 2,6 (m, br, 10 2H), 1,8 (m, br, 2H), 1,5 (s, 3H). MS (m/z, %): 516 (M⁺ + 1, 100).

Voorbeeld 29

15 2-(3-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyri-
midin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-propan-2-ol

Smeltpunt 204-5°C.

¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,6 (d, 1H), 8,3 (d, 1H), 7,3 (m, br, 20 1H), 7,2 (m, br, 1H), 7,1 (m, br, 1H), 7,0 (m, br, 3H), 6,8 (s, br, 2H), 4,6 (s, br, 2H), 3,7 (m, br, 6H), 3,3 (m, br, 2H), 2,6 (m, br, 2H), 1,8 (m, br, 2H), 1,4 (s, 6H). MS (m/z, %): 488 (M⁺ + 1, 100).

25 Voorbeeld 30

4-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimi-
din-2-ylamino]-propyl}-benzonitril

30 Smeltpunt 220-2°C.

¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,6 (d, 1H), 8,3 (d, 1H), 7,7 (m, br, 2H), 7,4 (m, br, 2H), 7,0 (m, br, 2H), 6,8 (s, br, 2H), 4,6 (s, br, 2H), 3,7 (m, br, 6H), 3,3 (m, br, 2H), 2,7 (m, br, 2H), 1,8 (m, br, 2H). MS (m/z, %): 455 (M⁺ + 1, 35 100).

Voorbeeld 31N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-(3-pyridin-4-yl)-propyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

5

¹H-NMR (CD₂Cl₂): δ 9,1 (d, 1H), 8,9 (m, br, 1H), 8,4 (m, br, 3H), 7,2 (m, br, 2H), 7,1 (m, br, 1H), 7,0 (s, br, 1H), 6,9 (d, 1H), 6,6 (d, 1H), 4,8 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 3,7 (s, 3H), 3,6 (m, 2H), 2,7 (m, 2H), 2,0 (m, 2H). MS (m/z, %): 432 (M⁺ + 1, 20), 256 (15), 237 (30), 216 (100).

De verbindingen van Voorbeelden 32-35 werden bereid volgens de volgende gegeneraliseerde procedure. Specifieke uitzonderingen op de toegepaste reactie- en/of zuiveringsomstandigheden worden vermeld.

Aan een geroerde oplossing van 2,4-dichloorpyrido[2,3-d]pyrimidine (0,75 mmol) en DIPEA (1,5 mmol) in 3 ml DMSO werd 0,75 mmol van een amine overeenkomend met formule (V), Schema 1, stap 1, bij kamertemperatuur toegevoegd. Het mengsel werd 1 uur bij kamertemperatuur geroerd, vervolgens werden 2,25 mmol van een amine overeenkomend met formule (VII), Schema 1, stap 2 en additioneel DIPEA (2,25 mmol) toegevoegd en het mengsel 2 uur verwarmd tot 90°C.

Voorbeeld 32N⁴-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N²-(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

De verbinding werd geïsoleerd en gezuiverd uit het ruwe reactiemengsel door directe injectie op een omgekeerde fase preparatieve HPLC met behulp van een stapgradient van acetonitril/water dat 0,1% ammoniumhydroxide bevatte als een eluent. Fracties die de verbinding bevat-

ten, werden gecombineerd en geconcentreerd en gaven een vaste stof.

Smeltpunt 165-7°C.

¹H-NMR (d₆-DMSO): 8,6 (dd, 1H), 8,4 (dd, 1H), 7,2 (m, br, 3H), 7,1 (m, br, 2H), 7,0 (m, br, 2H), 6,8 (m, br, 2H), 4,6 (m, br, 2H), 3,7 (d, br, 6H), 3,3 (m, br, 2H), 2,6 (m, br, 2H), 1,8 (m, 2H). MS (m/e, %): 431 (M⁺ + 1,50), 430 (M⁺, 100).

10 Voorbeeld 33

N⁴-(3,5-Dimethoxybenzyl)-N²-(3-fenoxy-ethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

15 De verbinding werd geïsoleerd en gezuiverd uit het ruwe reactiemengsel door directe injectie op een omgekeerde fase preparatieve HPLC met behulp van een stapgradient van acetonitril/water dat 0,1% ammoniumhydroxide bevatte als een eluent. Fracties die de verbinding bevatten, werden gecombineerd en geconcentreerd en de rest omge-
20 gekristalliseerd uit IPA/water.

Smeltpunt 165-7°C.

¹H-NMR (d₆-DMSO): 8,6 (dd, 1H), 8,4 (d, 1H), 7,2 (m, br, 3H), 7,1 (m, br, 2H), 7,0 (m, 1H), 6,9 (m, br, 2H), 6,8
25 (m, br, 1H), 6,5 (d, 2H), 6,4 (s, 1H), 4,6 (m, br, 2H), 4,0 (m, br, 2H), 3,7 (m, br, 8H). MS (m/e, %): 433 (M⁺ + 1,50), 432 (M⁺, 100).

Voorbeeld 34

30

N⁴-(3-Ethoxy-4-methoxybenzyl)-N²-(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

De verbinding werd geïsoleerd en gezuiverd uit het
35 ruwe reactiemengsel door directe injectie op een omgekeerde fase preparatieve HPLC met behulp van een stapgra-

diënt van acetonitril/water dat 0,1% ammoniumhydroxide bevatte als een eluent. Fracties die de verbinding bevatten, werden gecombineerd, geconcentreerd en omgekristalliseerd uit acetonitril/water.

5 Smeltpunt 181-2°C.

Analyse berekend voor $C_{28}H_{29}N_5O_2$: C, 70,4; H, 6,6; N, 15,8.
Gevonden: C, 70,7; H, 6,9; N, 15,9.

Voorbeeld 35

10

2-(4-{3-[4-(3-Ethoxy-4-methoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]-pyrimidin-2-ylamino-propyl]-fenyl)-propan-2-ol

De verbinding werd geïsoleerd en gezuiverd uit het
15 ruwe reactiemengsel door directe injectie op een omgekeerde fase preparatieve HPLC met behulp van een stapgradiënt van acetonitril/water dat 0,1% ammoniumhydroxide bevatte als een eluent. Fracties die de gewenste verbinding bevatten, werden gecombineerd, geconcentreerd en om-
20 gekristalliseerd uit acetonitril/water.

Smeltpunt 150-2°C.

Analyse berekend voor $C_{29}H_{35}N_5O_3$: C, 69,4; H, 7,0; N, 13,7.
Gevonden: C, 69,1; H, 6,9; N, 13,7.

25 Voorbeeld 36

1-(4-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl)-fenyl)-2,2,2-trifluor-ethanon

30 Aan een geroerde oplossing van de titelverbinding van Voorbeeld 25 (150 mg, 0,28 mmol) in 15 ml dichloormethaan werd bij kamertemperatuur 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (180 mg, 0,43 mmol) toegevoegd. Het mengsel werd 6 uur bij kamertemperatuur ge-
35 roerd, vervolgens werd een additionele portie 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (180 mg,

0,43 mmol) toegevoegd en werd het mengsel gedurende de nacht bij kamertemperatuur geroerd. Het mengsel werd verdund met chloroform, gewassen met water, gedroogd boven MgSO_4 en geconcentreerd en gaf een olie. Chromatografie 5 over silicagel eluerend met 5% MeOH 2 N in ammoniak/dichloormethaan leverde een olie. Wrijven met EtOAc gaf 45 mg van een vaste stof.

Smeltpunt 198-200°C.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO): 8,6 (dd, 1H), 8,4 (dd, 1H), 7,9 (m, br, 10 2H), 7,5 (m, br, 2H), 7,0 (m, 2H), 6,8 (m, br, 2H), 4,6 (m, 2H), 3,7 (m, 6H), 3,3 (m, 2H), 2,7 (m, br, 2H), 1,9 (m, br, 2H). MS (m/e, %): 526 (M^+ , 100).

Voorbeeld 37

15

1-(3-{3-[4-(3,4-Dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-ethanon

Een mengsel van de titelverbinding van Bereiding 27 20 (419 mg, 0,81 mmol) in 8 ml THF dat 10 ml 6 N chloorwaterstofzuur bevatte, werd 6 uur bij kamertemperatuur geroerd. Het reactiemengsel werd geëxtraheerd met EtOAc, het organische extract werd gewassen met 5% natriumbicarbonaatoplossing en vervolgens geconcentreerd en gaf een 25 vaste stof.

Smeltpunt 152-5°C.

$^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO): 8,8 (d, 1H), 8,7 (d, 1H), 7,7 (m, 2H), 7,4 (m, 3H), 7,0 (s, 1H), 6,8 (m, 2H), 4,6 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 3,6 (s, 3H), 3,5 (m, 2H), 2,7 (m, 2H), 2,5 (s, 30 3H), 1,9 (m, 2H). MS (m/e, %): 471 (M^+ , 30), 470 (100).

BIOLOGISCHE METHODOLOGIEËN

PDE 2 Enzymisolatie

5 PDE 2 enzym werd geïsoleerd uit menselijke plaatjes met ongeveer 1,4 l bloed van meervoudige donoren, toegepast om de plaatjespellets te maken. Plaatjes werden opnieuw gesuspenderd in ongeveer 75 ml lyse buffer [20 mM Tris pH 7,2, 5 mM MgCl₂, 250 mM sucrose, 1 mM DTT, 1 µl/2
10 ml Sigma Protease remmer #8340; Sigma-Aldrich; St. Louis, MO] en gelyseerd door behandeling met ultrageluid bij 4°C, met 3 ronden van uitbarstingen van 1 min., vervolgens gedurende de nacht bij 4°C afgedraaid bij 100.000 x g. Opgehelderde lysaten werden geladen op AKTA Explorer
15 FPLC (Amersham Biosciences; Piscataway, NJ) in een reeks van drie chromatografische scheidingen met een gemiddeld laadvolume van 24 ml. Een 5 ml HiTrap W anionenwisselaar-kolom (Amersham Biosciences) werd gebruikt. Een buffer [20 mM Tris pH 7,2, 5 mM MgCl₂, 1 µl/2 ml Sigma Protease
20 remmer #8340] werd gemengd met een gradiënt van B-buffer [20 mM Tris pH 7,2, 500 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1 µl/2 ml Sigma Protease remmer #8340] over 20 kolomvolumina van een aanvankelijke B-buffer concentratie van 0% tot een eindconcentratie van 100%. cGMP-hydrolyserende pieken
25 werden opgemerkt met een gemiddelde resolutie bij laag zout- 125 mM NaCl (PDE 5) en hoog zout- 325 mM NaCl (PDE 2). Twee grote cGMP activiteitsfracties (PDE 5 en PDE 2) werden afzonderlijk geïsoleerd en samengevoegd. De PDE 2-samengevoegde fractie totaal was ongeveer 40 ml dat werd
30 toegediend in cryo-flesjes van 200 µl/flesje en bij -80°C in opslag geplaatst.

PDE 2 Enzymbindingsassay

35 De remmende activiteit van de verbindingen met formule (I) op recombinant of geïsoleerd PDE 2 en andere

PDE's werd bepaald met behulp van de [^3H]cAMP scintillatieproximiteitsassay (SPA) pakketten van Amersham International (Little Chalfont, Engeland). De SPA assays werden uitgevoerd met behulp van 96-putjes platen. De PDE 5 SPA yttrium silicaat parels (Amersham Biosciences) binden bij voorkeur aan het lineaire nucleotide, GMP, vergeleken met het cyclische nucleotide, cGMP. ^3H -cGMP werd aan de reactie toegevoegd en toen het product, ^3H -GMP, in dichte nabijheid met de parels was, werd het scintillatiemiddel in de parel aangeslagen, dat werd gedetecteerd met behulp van een Packard scintillatieteller (Perkin-Elmer Life Sciences; Boston, MA). De toegepaste enzymconcentratie was in het lineaire traject en de K_m van het enzym werd bepaald (15 μM). De uiteindelijke substraatconcentratie was $< 1/3$ van K_m (1 μM) zodat IC_{50} -waarden de K_i -waarden zouden benaderen. De assay werd gevalideerd met behulp van literatuur verbindingen als controles voorafgaande aan het testen van verbindingen. Vervolgens werden PDE katalytische activiteitsmetingen verkregen in aanwezigheid van de testverbinding en die verkregen in afwezigheid van de testverbinding, vergeleken en de IC_{50} -waarden wordt bepaald.

De radioactieve substraten en de producten van de PDE-reactie werden kwantitatief bepaald met behulp van een RACK-BETA 1219 vloeistofscintillatieteller (LKB Wallac; Freiburg, Duitsland). De IC_{50} -waarden (concentraties met 50% remming) werden bepaald met 1 μM cAMP of cGMP met behulp van de piekfracties. De gegevens werden gepast met vier parameters met behulp van de sigmoidale logistische functie.

Met behulp van het eerder beschreven PDE 2 enzym geïsoleerd uit menselijke plaatjes en de werkwijze voor het bepalen van testverbindingen voor remming van het enzym, werd een IC_{50} van 1,7 μM bepaald voor EHNA. Bovendien werd een IC_{50} van 3 nM voor 9-(1-acetyl-4-fenylbutyl)-2-(3,4-

dimethoxybenzyl)-1,9-dihydropurin-6-on ook bepaald met behulp van de hiervoor genoemde werkwijze.

De verbindingen met formule (I) vertonen in het algemeen remmende activiteit, uitgedrukt als IC_{50} 's tegen 5 PDE 2, welke < 1.000 nM zijn. Trajecten van PDE 2 remmende activiteit voor de verbindingen met formule (I) in Voorbeelden 1-37 worden vermeld in Tabel 1.

Tabel 1

10

Voorbeeld	PDE 2 remmer	Voorbeeld	PDE 2 remmer
1	++	22	++
2	++	23	+
3	+	24	+
4	+	25	++
5	+++	26	+
6	+	27	+
7	++	28	+
8	+	28	+
9	+	30	+
10	+++	31	+
11	+	32	+
12	++	33	++
13	++	34	+
14	++	35	+
15	++	36	+
16	+++	37	+
17	+++		
18	++		
19	++		
20	+		
21	+		

PDE 2 remming: +++ ($IC_{50} < 50$ nM), ++ (IC_{50} 50-250 nM), + (IC_{50} 250-1.000 nM)

Het vermogen van PDE 2 remmers, waaronder de verbin-
dingen met formule (I) om botbreuk en/of defect te behan-
delen of botingroei te bevorderen, kan worden gedemon-
streerd volgens de volgende protocollen.

5

Ratten dwarse dijbreukmodel

Mannelijke Sprague-Dawley ratten van 3 tot 4 maanden
leeftijd werden gebruikt. De dieren werden geanestheti-
10 seerd met ketamine en xylazine in doses van respectieve-
lijk 110 en 10 mg/kg. De rechterachterpoot van elke rat
werd geschoren en gereinigd. Een incisie van 1 cm werd
gemaakt juist dwars ten opzichte van de patella en de
dijcondylus werd bloot gesteld. Een Kirschner draad
15 (0,045" in diameter) werd ingebracht in het intramedul-
laire kanaal door het intercondylaire gedeelte om te die-
nen als inwendige stabilisatie. De spierincisie werd ge-
sloten met vicryl en de huidincisie werd gesloten met
roestvrij stalen wondclips. De midden-diafyse van de ge-
20 pende dij werd gebroken met behulp van een driepunts
buiginrichting aangedreven door een valgewicht. De ratten
werden volledig gewichtdragende en onbeperkte activiteit
toegelaten na ontwaken uit anesthesie. De testverbindin-
gen werden toegediend op diverse dagen na chirurgie door
25 percutane injectie op de breukplaats. De dieren werden
opgeofferd na behandeling en de dijen werden verzameld
voor analyse. Breukgenezing werd geëvalueerd door toepas-
sen van radiografie, histologische en biomechanische test
(F. Bonnarens, c.s., Journal of Orthopaedic Research, 2,
30 97-101 (1984)).

Onderzoeksprotocol en resultaten in het ratten dwarse dijbreukmodel

35

Drie maanden oude mannelijke ratten werden onderwor-
pen aan dwarse breuk in hun rechterdijen onder algemene

anesthesie. Een enkelvoudige dosis (5 mg) van N⁴-(3,4-dimethoxybenzyl)-N²-(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine werd percutaan geïnjecteerd in de breukplaatsen bij de voltooiing van breukgenerering. Drie weken na de injecties werden de ratten opgeofferd en werden de rechterdijen geoogst en geanalyseerd. Kracht-tot-falen en stijfheid (indices van botsterkte) werden verhoogd met 19% en 62% respectievelijk in de dijnen behandeld met N⁴-(3,4-dimethoxybenzyl)-N²-(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]-pyrimidine-2,4-diamine, vergeleken met die van de dijnen behandeld met placebo.

Ratten periosteaal injectiemodel

15 Ratten werden geanesthetiseerd met isofluraan (2-3 min.) in een geleidingskamer gelokaliseerd in een zuurkast. De rechterachterpoot van elke rat werd geschoren en gereinigd. Een 25 gauge naald bevestigd aan een injectiespuut werd vooraf gevuld met een formulering van de test-
20 verbinding voor lokale injectie. De formulering werd op het subperiosteum van de dij geïnjecteerd in een volume van 5-15 µl gedurende 14 dagen. De ratten werden opgeofferd na dosering, de dijnen werden verzameld en vervolgens geanalyseerd via radiografie en duale energie röntgen absorptiometrie (DEXA).
25

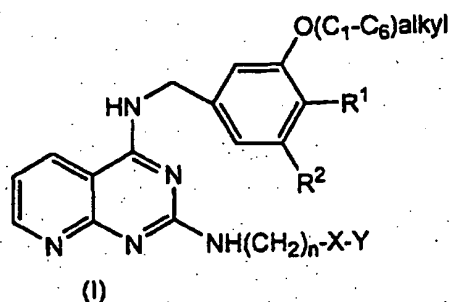
Onderzoeksprotocol en resultaten in het ratten periosteale injectiemodel

30 De rechterdij van 3 weken oude mannelijke Sprague-Dawley ratten ontvingen een dagelijkse injectie van vehikel of testverbinding vijfmaal per week gedurende twee weken. Op dag 15 werden alle ratten opgeofferd en werden de rechterdijen verzameld voor analyse. Periosteale bot-
35 inductie werd vastgesteld met behulp van radiografie en DEXA. Radiografie toonde nieuwe botvorming gelokaliseerd

op de injectieplaats van alle dijen behandeld met test-
 verbinding. Het botmineraalgehalte (BMC) van het geïnjec-
 teerde gebied van de dij (gebied tussen lagere trochanter
 en middenschacht van de dij) werd vastgesteld door DEXA,
 5 waarbij ratten werden vergeleken behandeld met testver-
 binding met die behandeld met slechts vehikel. In dit mo-
 del verhoogden N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -(2-pyridin-4-
 yl-ethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine, 2-(3-{3-
 [3,4-dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl-
 10 amino]-propyl)-fenyl)-propan-2-ol en N^4 -(3,4-dimethoxy-
 benzyl)- N^2 -(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-
 diamine BMC met respectievelijk 34%, 49% en 33%. Boven-
 dien verhoogde 9-(1-acetyl-4-fenylbutyl)-2-(3,4-di-
 methoxybenzyl)-1,9-dihydropurin-6-on BMC met 20% in het
 15 hiervoor genoemde model.

Conclusies

1. Verbinding met formule (I)



de prodrugs daarvan en de farmaceutisch aanvaardbare zouten van de verbindingen of prodrugs, waarbij:

R^1 en R^2 waterstof of methoxy zijn, met dien verstande dat R^1 en R^2 niet beide waterstof of beide methoxy zijn;

n 1, 2, 3 of 4 is;

X een binding; O; S; C=O; -N(R)-, waarbij R waterstof of -(C₁-C₃)alkyl is; -C(OH)-; of -SO₂ is; en

Y benzoxazolyl; benzothiazolyl; benzofurazanyl; benzofuranyl; benzothiadiazolyl; benzisoxazolyl; benzisothiazolyl; benzimidazolyl; pyridyl; isatiny; oxindolyl; indazolyl; indolyl, fenyl; thienyl; of furanyl is; waarbij Y eventueel onafhankelijk is gesubstitueerd met één tot drie halogeen; trifluormethyl; methoxy; -C(=O)CH₃; cyano; -C(CH₃)₂OH; -CH(CH₃)OH; -CH(CF₃)OH; -C(C=O)CF₃; -SO₂NH₂; -C(=O)OCH₃; -CH₂COOH;



thiazolyl of oxadiazolyl.

2. Verbinding volgens conclusie 1, waarbij X een binding is en Y benzofurazanyl; thienyl, pyridyl of fenyl is, waarbij fenyl eventueel onafhankelijk is gesubstitueerd met één of twee halogeen; trifluormethyl; methoxy; $-C(=O)CH_3$; cyano; $-C(CH_3)_2OH$; $-CH(CH_3)OH$; $-CH(CF_3)OH$; $-C(C=O)CF_3$; $-SO_2NH_2$; $-C(=O)OCH_3$; $-CH_2COOH$; thiazolyl of oxadiazolyl.
3. Verbinding volgens conclusie 1 of 2, waarbij X een binding is, n 2 of 3 is en Y thienyl; pyridyl of fenyl is, waarbij fenyl eventueel onafhankelijk is gesubstitueerd met één of twee methoxy; halogeen; $-C(CH_3)_2OH$; $-CH(CF_3)OH$ of $-C(C=O)CF_3$.
4. N^2, N^4 -bis-(3,5-dimethoxybenzyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
 N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -(2-pyridin-4-yl-ethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
 N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -(2-thiofen-4-yl-ethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
 N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -2-fenethyl-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
 N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -[2-(3,5-dimethoxy-fenyl)-ethyl]-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
2-(3-{3-[4-(3,4-dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-propan-2-ol;
 N^4 -(3,4-dimethoxybenzyl)- N^2 -[2-(4-fluor-fenyl)ethyl]-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
 N^4 -(3,4-dimethoxybenzyl)- N^2 -fenethyl-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine;
of
 N^4 -(3,4-dimethoxybenzyl)- N^2 -(3-fenyl-propyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine; een prodrug daarvan, of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug.

5. Farmaceutisch preparaat, omvattende een verbinding met formule (I) volgens één der conclusies 1-4, een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug en een farmaceutisch aanvaardbaar vehikel, drager of verdunningsmiddel.
6. Gebruik van een verbinding met formule (I) volgens één der conclusies 1-4, een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug, of een farmaceutisch preparaat omvattende genoemde verbinding met formule (I), genoemd prodrug of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug, en een farmaceutisch aanvaardbaar vehikel, drager of verdunningsmiddel, voor het bereiden van een geneesmiddel voor het behandelen van een PDE 2 gemedieerde aandoening, ziekte of symptoom bij een zoogdier dat een dergelijke behandeling nodig heeft.
7. Gebruik volgens conclusie 6, waarbij genoemde aandoening, ziekte of symptoom osteoporose, pulmonale hoge bloeddruk, vrouwelijke seksuele opwindingsaandoening, verminderd geheugen of cognitie, bloedplaatjesaggregatie, vasculaire angiogenese, dementie, kanker, aritmie, trombose, botbreuk en/of -defect, vertraagde of non-union fractuur, spinale fusie, botingroei, craniale gezichtsreconstructie of hypoxie is.
8. Gebruik volgens conclusie 6, waarbij genoemde aandoening botbreuk en/of -defect is.
9. Farmaceutisch preparaat, omvattende een PDE 2 remmer, een EP₂ selectieve receptoragonist en een far-

maceutisch aanvaardbaar vehikel, drager of verdunningsmiddel.

10. Preparaat volgens conclusie 9, waarbij genoemde PDE 2 remmer N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -(2-pyridin-4-ylethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine; 2-(3-{3-[4-(3,4-dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-propan-2-ol; N^4 -(3,4-dimethoxybenzyl)- N^2 -(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine; een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug is.
11. Preparaat volgens conclusie 9 of 10, waarbij genoemde EP_2 selectieve receptoragonist (3-(((4-tert-butyl-benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-fenoxy)-azijnzuur, een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug is.
12. Gebruik volgens één der conclusies 6-8, waarbij aan genoemd zoogdier verder een therapeutisch effectieve hoeveelheid van een EP_2 selectieve receptoragonist wordt toegediend; of waarbij aan genoemd zoogdier een farmaceutisch preparaat omvattende een combinatie van genoemde verbinding met formule (I) volgens conclusie 1 en genoemde EP_2 selectieve receptoragonist wordt toegediend.
13. Gebruik volgens conclusie 12, waarbij genoemde PDE 2 remmer N^4 -(3,5-dimethoxybenzyl)- N^2 -(2-pyridin-4-ylethyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine; 2-(3-{3-[4-(3,4-dimethoxybenzylamino)-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino]-propyl}-fenyl)-propan-2-ol; N^4 -(3,4-dimethoxybenzyl)- N^2 -(3-fenylpropyl)-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine; een prodrug daarvan of een

farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug is.

14. Gebruik volgens conclusie 12 of 13, waarbij genoemde
5 EP₂ selectieve receptoragonist (3-(((4-tert-butyl-
benzyl)-(pyridine-3-sulfonyl)-amino)-methyl)-
fenoxy)-azijnzuur, een prodrug daarvan of een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde verbinding of prodrug is.
- 10
15. Gebruik van een PDE 2 remmer, een prodrug daarvan of
een farmaceutisch aanvaardbaar zout van genoemde
remmer of prodrug voor het bereiden van een genees-
middel voor het behandelen van botbreuk en/of
15 -defect bij een zoogdier dat een dergelijke behande-
ling nodig heeft.

RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Van belang zijnde literatuur			
Categorie ¹	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of figuren.	Van belang voor conclusie(s) Nr.:	International Patent Classification (IPC)
X	EP 0404355 A1 (SMITHKLINE BECKMAN INTERCREDIT) 27 december 1990 * conclusie 1; bladzijde 2, regel 27 - bladzijde 3, regel 15 * ---	1-5	C07D471/04 A61K31/519 A61P15/00 A61P13/00
X	WO 01/32632 A2 (LILLY CO ELI) 10 mei 2001 * conclusie 1; bladzijde 4, regel 1 - bladzijde 5, regel 4 * ---	1-5	A61P9/00 A61P19/10
D, A	US 5547954 A (FMC CORP) 20 augustus 1996 * conclusie 1; kolom 1, regel 32 - kolom 2, regel 26 * ---	1-15	Onderzochte gebieden van de techniek, gedefinieerd volgens IPC 7 A61K C07D
A	US 6184226 B1 (SCIOS INC) 6 februari 2001 * conclusie 1; samenvatting * ---	1-15	
A	WO 02/00660 A1 (MERCK PATENT GMBH) 3 januari 2002 * conclusie 1 * -----	1-15	Computerbestanden WPI Epodoc PAJ REGISTRY (STN) CAPLUS (STN) MARPAT (STN) BEILSTEIN (STN)

Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op:

Omvang van het onderzoek: volledig

Onderzochte conclusies:

Niet (volledig) onderzochte conclusies met redenen: ²

Hoewel conclusies 6-8 en 12-15 medische werkwijzen lijken te betreffen, welke volgens Artikel 7, lid 2 niet worden beschouwd als uitvindingen die vatbaar zijn voor toepassing op het gebied van de nijverheid, is het onderzoek uitgevoerd en gebaseerd op de vermeende effecten van de verbinding/samenstelling.

Datum waarop het
onderzoek werd voltooid:

7 oktober 2005

Vooronderzoeker: Dr. Ing. L. Bechger

¹ Verklaring van de categorie-aanduiding: zie apart blad.

² Op grond van artikel 3:45 j° de artikelen 6:4 en 6:7 van de Algemene wet bestuursrecht, kan aanvrager tegen de niet-eenheidsbeslissing bezwaar maken bij het Bureau voor de Industriële Eigendom, binnen 6 weken na de bekendmaking van deze beslissing.

Categorie van de vermelde literatuur:

- X: op zichzelf van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- Y: in samenhang met andere geciteerde literatuur van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- A: niet tot de categorie X of Y behorende van belang zijnde stand van de techniek
- O: verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek
- P: literatuur gepubliceerd tussen voorrrangs- en indieningsdatum
- T: niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding
- E: colliderende octrooiaanvraag
- D: in de aanvraag genoemd
- L: om andere redenen vermelde literatuur
- &: lid van dezelfde octrooifamilie; corresponderende literatuur

AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK, UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR. 1027787

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooigeschriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per 27 oktober 2005

De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door Octrooiencentrum Nederland gegarandeerd; de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooi- geschrift		datum van publicatie	overeenkomend(e) geschrift(en)	datum van publicatie
EP0404355	A	1990-12-27	JP3017080 A	1991-01-25
WO0132632	A	2001-05-10		
US5547954	A	1996-08-20		
US6184226	B	2001-02-06	WO0012497 AB CN1333757 A	2000-03-09 2002-01-30
WO0200660	A	2002-01-03	DE10031584 A CZ20024054 A CN1439011 A ZA200209728 A	2002-01-10 2003-04-16 2003-08-27 2004-03-12

Algemene informatie over dit aanhangsel is gepubliceerd in de 'Official Journal' van het Europees Octrooibureau nr 12/82 blz 448 ev



AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK, UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR. 1027787

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooigeschriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per **27 oktober 2005**

De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door Octrooiencentrum Nederland gegarandeerd; de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooi- geschrift		datum van publicatie	overeenkomend(e) geschrift(en)	datum van publicatie
EP0404355	A	1990-12-27	JP3017080 A	1991-01-25
WO0132632	A	2001-05-10		
US5547954	A	1996-08-20		
US6184226	B	2001-02-06	WO0012497 AB CN1333757 A	2000-03-09 2002-01-30
WO0200660	A	2002-01-03	DE10031584 A CZ20024054 A CN1439011 A ZA200209728 A	2002-01-10 2003-04-16 2003-08-27 2004-03-12

Algemene informatie over dit aanhangsel is gepubliceerd in de 'Official Journal' van het Europees Octrooibureau nr 12/82 blz 448 ev