



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 336 891**

51 Int. Cl.:  
**C07D 401/04** (2006.01)  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**C07D 401/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01984640 .1**  
96 Fecha de presentación : **11.09.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1322634**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.07.2003**

54 Título: **Derivados de N-fenil-2-pirimidin-amina.**

30 Prioridad: **13.09.2000 GB 0022438**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**19.04.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**19.04.2010**

73 Titular/es: **Novartis AG.**  
**Lichtstrasse 35**  
**4002 Basel, CH**

72 Inventor/es: **Buerger, Hans, Michael;**  
**Caravatti, Giorgio;**  
**Zimmermann, Juerg;**  
**Manley, Paul, William;**  
**Breitenstein, Werner y**  
**Cudd, Margaret, Amelia**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 336 891 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de N-fenil-2-pirimidin-amina.

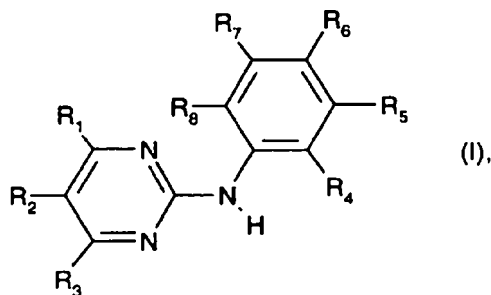
5 La invención se relaciona con derivados de N-fenil-2-pirimidin-amina, con procesos para la preparación de los mismos, con medicamentos que contienen esos compuestos, y con el uso de los mismos en la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento terapéutico de animales de sangre caliente, incluidos humanos.

La invención se relaciona con derivados de N-fenil-2-pirimidin-amina de fórmula I

10

15

20



en donde

25

R<sub>1</sub> es piridilo enlazado a un átomo de carbono del anillo,

R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son ambos hidrógeno,

R<sub>4</sub> es alquilo inferior,

30

R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son ambos hidrógeno,

R<sub>7</sub> es un radical de fórmula II,

35



en donde

40

R<sub>9</sub> es hidrógeno,

X es oxo

n es 0 y

45

R<sub>10</sub> es fenilo que está

a) sustituido por alquilo inferior que está sustituido por mono o dialquilamino inferior, o

50

b) sustituido por un radical no sustituido o sustituido por alquilo inferior seleccionado del grupo que consiste del alquilo inferior pirrolidinilo, del alquilo inferior piperidilo y del alquilo inferior morfolinilo, o

55

c) sustituido por el alquilo inferior piperazinilo que está opcionalmente sustituido en el anillo de piperazina por alquilo inferior C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>,

y R<sub>6</sub> es hidrógeno,

en donde el término “inferior” denota radicales que tienen hasta e incluyen 7 átomos de carbono,

60

o una sal de un compuesto tal que tiene al menos un grupo que forma una sal.

Piridilo R<sub>1</sub> enlazado a un átomo de carbono del anillo es 2, 4 o preferiblemente 3-piridilo no sustituido, por ejemplo 3-piridilo.

65

Cuando X es oxo, el grupo C=X es un radical C=O.

n es =0, es decir, el grupo Y no está presente.

## ES 2 336 891 T3

El término "inferior" dentro del alcance de este texto denota radicales que tienen hasta y que incluyen 7, preferiblemente hasta y que incluyen 4 átomos de carbono.

Un radical seleccionado de la lista mencionada anteriormente a) o b) está preferiblemente enlazado al fenilo R<sub>10</sub> en posición 3 ó 4 del anillo de fenilo.

Los grupos que forman sales en un compuesto de fórmula I son grupos o radicales que tienen propiedades ácidas o básicas. Los compuestos que tienen al menos un grupo básico o al menos un radical básico, por ejemplo un grupo amino libre, un radical pirazinilo o un radical piridilo, pueden formar sales de adición ácida, por ejemplo con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o un ácido fosfórico, o con ácidos sulfónico o carboxílico orgánicos adecuados, por ejemplo ácidos mono o dicarboxílicos alifáticos, tales como ácido trifluoroacético, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido hidroximaléico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico o ácido oxálico, o aminoácidos tales como arginina o lisina, ácidos carboxílicos aromáticos, tales como ácido benzoico, ácido 2-fenoxi-benzoico, ácido 2-acetoxi-benzoico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácidos carboxílicos aromáticoalifáticos, tales como ácido mandélico o ácido cinámico, ácidos carboxílicos heteroaromáticos, tales como ácido nicotínico o ácido isonicotínico, ácidos sulfónicos alifáticos, tales como ácido metano, etano ó 2-hidroxietano-sulfónico, o ácidos sulfónicos aromáticos, por ejemplo ácido benceno, p-tolueno o naftaleno-2-sulfónico. Cuando están presentes varios grupos básicos, se pueden formar sales de adición mono o poliácidas.

Para los propósitos de aislamiento o purificación, así como en el caso de compuestos que son utilizados además como intermediarios, también es posible utilizar sales farmacéuticamente inaceptables. Sin embargo, únicamente se utilizan sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables para propósitos terapéuticos, y por lo tanto esas sales son las preferidas.

Debido a la cercana relación entre los nuevos compuestos en la forma libre y en la forma de sus sales, incluidas aquellas sales que pueden ser utilizadas como intermediarias, por ejemplo en la purificación de los nuevos compuestos o para la identificación de los mismos, antes y en lo sucesivo se debe entender cualquier referencia a los compuestos libres como incluyendo las sales correspondientes, cuando sea apropiado y conveniente.

Un compuesto de fórmula I posee valiosas propiedades farmacológicas y puede, por ejemplo, ser utilizado como un agente antitumoral, como un agente para el tratamiento de la arteriosclerosis, como un agente para el tratamiento de restenosis, para la prevención de trastornos inducidos por trasplantes, tales como la bronquiolitis obliterante, y/o para la prevención de la invasión de células de animales de sangre caliente por ciertas bacterias, tales como *Porphyromonas gingivalis*.

Se sabe desde hace mucho que la fosforilación de proteínas es una etapa esencial en la diferenciación y división de las células. La fosforilación es catalizada por proteínas quinasas subdivididas en serina/treonina y tirosina quinasas. Las tirosina quinasas incluyen al receptor tirosina quinasa del PDGF (Factor de Crecimiento derivado de las Plaquetas).

El PDGF es un factor de crecimiento de ocurrencia muy común, que juega un papel importante tanto en el crecimiento normal como también en la proliferación patológica de las células, como se observa en la carcinogénesis y en enfermedades de las células de músculo liso de los vasos sanguíneos, por ejemplo en arterosclerosis y trombosis.

La inhibición de la actividad del receptor tirosina quinasa estimulada por PDFG *in vitro* se mide en complejos inmunes del receptor del PDGF de células A431, como lo describen E. Andrejaskas-Buchdunger y U. Regenass en Cancer Research 52, 5353 - 5358 (1992). Un compuesto de fórmula I inhibe la fosforilación del receptor celular que depende del PDGF. La inhibición del receptor tirosina quinasa del PDGF se mide en un ensayo de microtitulación por ELISA (consultar Trinksy colaboradores, J. Med. Chem. 37, 1015-27 (1994). Un compuesto de fórmula I inhibe la actividad de la tirosina quinasa del receptor del PDGF con una IC<sub>50</sub> (concentración a la cual la actividad es inhibida en un 50% comparada con el control) entre 1 nM y 1 μM, especialmente entre 3 nM y 300 nM.

La inhibición del receptor tirosina quinasa del PDGF hace a un compuesto de fórmula I también adecuado para el tratamiento de enfermedades tumorales, tales como gliomas, sarcomas, tumores de próstata, y tumores de colon, seno y ovario.

Un compuesto de fórmula I también inhibe procesos celulares que involucran al así llamado factor de célula madre (SCF, también conocido como el ligando del kit c o factor de acero), tal como la autofosforilación del receptor del SCF (kit) y la activación estimulada por SCF de la MAPK quinasa (proteína quinasa activada por mitógeno).

Un compuesto de fórmula I inhibe por lo tanto también la autofosforilación del receptor del SCF (y del kit c, un protooncogén). Las células MO7e son una línea de células de leucemia promegacariocítica que depende del SCF para la proliferación. Se obtienen del Grover Bagby, Oregon Health Sciences University, EUA. Las células se cultivan en medio RPMI 1649 suplementado con 10 FBS y 2,5 ng/ml de GC-CMF. GM-SCF y SCF se encuentran comercialmente disponibles. Las células MO7e privadas de suero se preparan y se incuban durante 90 min a 37°C con la sustancia de prueba antes de ser estimuladas con SCF recombinante durante 10 min a 37°C. Se analizan cantidades idénticas de lisados celulares por medio de transferencias tipo Western utilizando anticuerpos antifosfotirosina (Buchdunger y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci (EUA) 92, 2558-62 (1995)). Se detectan las proteínas inmunodecoradas por

medio del sistema ECL de transferencias tipo Western de Amersham (Amersham, RU). Un compuesto de fórmula I inhibe la autofosforilación del receptor del SCF en el rango micromolar.

Con base en las propiedades descritas, se puede utilizar un compuesto de fórmula I no solamente como una sustancia inhibidora de tumores, por ejemplo en cáncer de pulmón de células pequeñas, sino también como un agente para el tratamiento de trastornos proliferativos no malignos, tales como aterosclerosis, trombosis, psoriasis, escleroderma, y fibrosis, así como para la protección de células madre, por ejemplo para combatir el efecto hemotóxico de agentes quimioterapéuticos, tales como 5-fluoracilo, y en asma. Puede ser utilizado especialmente para el tratamiento de enfermedades que responden a una inhibición del receptor quinasa del PDGF.

Además, un compuesto de fórmula I previene el desarrollo de resistencia a múltiples fármacos en la terapia contra el cáncer con otros agentes quimioterapéuticos o elimina una resistencia preexistente a otros agentes quimioterapéuticos. También, a pesar del efecto descrito aquí anteriormente, un compuesto de fórmula I puede ser utilizado provechosamente en combinación con otros agentes antitumorales.

También la abl quinasa, especialmente la v-abl quinasa, es inhibida por un compuesto de fórmula I. La inhibición de la v-abl tirosina quinasa se determina por medio de los métodos de N. Lydon y colaboradores, *Oncogene Research* 5, 161 - 173 (1990) y J. F. Geissler y colaboradores, *Cancer Research* 52, 4492 - 8 (1992). En esos métodos se utilizan la [Val<sup>5</sup>]-angiotensina II y [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]-ATP como sustratos.

Por analogía, un compuesto de fórmula I también inhibe a la BCR-abl quinasa (ver *Nature Medicine* 2, 561-566 (1996)) y es por lo tanto adecuado para el tratamiento de enfermedades tumorales y cancerosas positivas para BCR-abl, tales como leucemias (especialmente leucemia mieloide crónica y leucemia linfoblástica aguda, donde se encuentran mecanismos especialmente apoptóticos de acción), y también muestra efectos sobre el subgrupo de células madre leucémicas así como potencial para la purificación de esas células *in vitro* después de la remoción de dichas células (por ejemplo, remoción de la médula ósea) y reimplantación de las células una vez que han sido despojadas de células cancerosas (por ejemplo, reimplantación de células purificadas de médula ósea).

Además, un compuesto de fórmula I muestra efectos útiles en el tratamiento de desordenes que surgen como resultado de trasplantes, por ejemplo, un trasplante alogénico, especialmente rechazo de tejido, tal como especialmente bronquiolitis obliterante (OB), es decir, un rechazo crónico de trasplantes alogénicos de pulmón. En contraste con pacientes sin OB, aquellos con OB muestran a menudo una concentración elevada del PDGF en fluidos de lavado broncoalveolar. Si se administra un compuesto de fórmula I a ratas con trasplantes alogénicos de tráquea, por ejemplo en una dosis de 50 mg/kg en forma intraperitoneal, se puede demostrar después de la remoción de 10 trasplantes por grupo, después de 10 y 30 días, por análisis morfométrico, posibles lesiones epiteliales y oclusión de las vías respiratorias, y una investigación de rutas inmunohistoquímicas de acción que, aunque un compuesto de fórmula I no tenga efecto significativo sobre necrosis epitelial o infiltración por células inflamatorias, reduce marcadamente la fibroproliferación y oclusión del lumen comparado con los controles. Los efectos sinérgicos con otras sustancias inmunomoduladoras o antiinflamatorias son posibles, por ejemplo cuando se utiliza en combinación con ciclosporina A (CsA), rapamicina, o ascomicina, o inmunosupresores análogos de los mismos, por ejemplo ciclosporina G, FK-506 o compuestos comparables; corticosteroides; ciclofosfamida; azatioprina; metrotexato; brequinar; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico; micofenolato de mofetilo; 15-desoxiespergualina; anticuerpos inmunosupresores, especialmente anticuerpos monoclonales para receptores de leucocitos, por ejemplo MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD45, CD58 o sus ligandos; u otros compuestos inmunomoduladores, tales como CTLA4Ig. Si CsA (1 mg/kg subcutáneo), por ejemplo, se combinan con un compuesto de fórmula I (50 mg/kg), se puede observar sinergismo.

Un compuesto de fórmula I es también efectivo en enfermedades asociadas con migración y proliferación de células vasculares de músculo liso (donde el PDGF y el receptor del PDGF a menudo juegan un papel), tal como restenosis y aterosclerosis. Estos efectos y las consecuencias de los mismos para la proliferación o migración de células vasculares de músculo liso *in vitro* e *in vivo* se pueden demostrar por medio de la administración de un compuesto de fórmula I y también por medio de la investigación de su efecto sobre el engrosamiento de la íntima vascular después de una lesión mecánica *in vivo*.

Se utiliza un compuesto de fórmula I en HCl 0,1 N o DMSO en una concentración de 10 mM para estudios *in vitro*. Se diluye adicionalmente la solución patrón con un medio de cultivo celular y se utiliza en concentraciones de 10 a 0,1  $\mu$ M para los experimentos. Para la administración *in vivo*, se disuelve un compuesto de fórmula I por ejemplo en DMSO en una concentración de 200 mg/ml y luego se diluye 1:20 con Tween al 1% en solución salina al 0,9%. Después de sonicación, se obtiene una solución clara. Se preparan soluciones patrón frescas cada día antes de la administración. (Se puede disolver también el compuesto de fórmula I simplemente en agua desionizada para administración oral o en solución salina al 0,9% para administración parenteral). Se lleva a cabo la administración 24 horas antes de la operación. Se administra un compuesto de fórmula I a ratas en una dosis de 50 mg/kg en forma intraperitoneal por día durante el período completo de observación. A las ratas de control se les administra la misma formulación pero sin la presencia de un compuesto de fórmula I. También es posible administración oral.

Se aíslan cultivos primarios de células de aorta de músculo liso de aortas de rata DA de 9 a 11 días de edad (AG-B4, RT1a) utilizando una modificación del método descrito por Thyberg y colaboradores (ver *Differentiation* 25, 156-67 (1983)). Se abre la aorta por medio de una incisión longitudinal y se remueve cuidadosamente el endotelio. Se

## ES 2 336 891 T3

separan la adventicia y la túnica media, y se digiere la túnica media con colagenasa al 0,1% y ADNasa en solución salina fisiológica amortiguada con fosfato durante 30 min a 37°C. Se centrifugan las células, se suspenden en medio de cultivo, y luego se les permite crecer en viales plásticos. Se utilizan las células primarias para los experimentos después de las pasadas 2 a 6. Se mantienen los subcultivos en DMEM (Medio de Eagle Modificado de Dulbecco), suplementado con suero de ternera fetal al 10%, 2 mmol/ml de glutamina, 100 mmol/ml de estreptomina, y 100 IU/ml de penicilina. Para propósitos de identificación, se dejan crecer las células sobre cubreobjetos de vidrio y se coloran inmunohistoquímicamente utilizando un anticuerpo anti- $\alpha$ -actina obtenido de células de músculo liso (ver más abajo).

Se cuantifica la migración de células de músculo liso *in vitro* utilizando un inserto de cultivo de células Transwell (Costar, Cambridge, MA) cuyos compartimientos superior e inferior están separados por una membrana de policarbonato de 8  $\mu$ m de tamaño de poro. Se exponen las células (100  $\mu$ l a una concentración de 1 millón de células/ml) en el compartimiento superior. Después de 2 horas, se añaden 60 ng/ml de PDGF-BB o PDGF-AA (Upstate Biotechnology Inc., Lake Placid, NY) en el compartimiento inferior, suplementado con suero de ternera fetal al 0,1% y albúmina de suero bobino al 0,1%, y se añade el compuesto de prueba de fórmula I en concentraciones de 3; 1; 0,3; 0,1; 0,03; 0,01 y 0,003  $\mu$ M. Para medir la migración dependiente de la fibronectina, se cubren las cámaras Transwell con fibronectina en una concentración de 10  $\mu$ g/ml durante 24 h a 4°C (fibronectina celular humana, Upstate Biotechnology Inc.). Después de 24 horas de migración, se remueven los filtros, se fijan en metanol, y se colorean con hematoxilina de Mayer y eosina. Se determinan las células que migraron sobre el lado inferior de la membrana filtrante haciendo un recuento de los campos seccionales especificados sobre los filtros con la ayuda de un microscopio de luz con una magnificación de 400x. Se cuantifica la inhibición de la migración en términos del porcentaje de células versus las células con el control. Para excluir la posibilidad de un efecto tóxico, se analiza la viabilidad de las células por medio de la incorporación de 3H-timidina en DMEM, suplementado con suero de ternera fetal al 10%. Se observa una inhibición de la migración inducida por PDGF-AA y especialmente por PDGF-BB con un compuesto de fórmula I.

Animales de experimentación: se despojan la aorta y la arteria carótida de ratas Wistar macho (adquiridas al Centro de Animales de Laboratorio de la Universidad de Helsinki, Finlandia). Se anestesian las ratas con 240 mg/kg de hidrato de cloral en forma intraperitoneal, y se administra Buprenorfina (Temgesic, Reckitt & Coleman, Hull, RU) para alivio pre y postoperatorio del dolor. Todos los animales reciben cuidado humano de acuerdo con los "Principios de Cuidado de Animales de Laboratorio" y la "Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio" de la NIH (Publicación de la NIH 86 - 23, revisada en 1985). Se utilizaron ratas con un peso de 200 - 300 g para el procedimiento de despojo. Se despoja la arteria carótida común izquierda del endotelio a través del pasaje intraluminal de un catéter 2F de embolectomía (Baxter Healthcare Corporation, Santa Ana, CA, 27). Para remover el endotelio, se pasa el catéter a través del lumen tres veces, inflado con 0,2 ml de aire. Se liga la carótida externa después de remover el catéter y se cierra la herida. Se evalúan los cambios histológicos por referencia a secciones de la carótida media 4 días después del despojo. Se despoja la carótida torácica del endotelio utilizando un catéter de embolectomía arterial Fogarty 2F. Se inserta el catéter en la aorta torácica a través de la arteria ilíaca izquierda, inflada con 0,2 ml de aire, y se lo pasa a través del lumen cinco veces para remover el endotelio. Se liga luego la arteria ilíaca. Se seleccionan tres períodos de tiempo (3, 7 y 14 días) para evaluación de los cambios histológicos.

Para cuantificar la proliferación de las células, se utilizan 3 procedimientos diferentes para marcar las células con bromodesoxiuridina (BrdU) después del despojo de la carótida de la rata. En este modelo, la proliferación de células en la túnica media comienza a las 24 h después del despojo; las células en la íntima aparecen primero después de 72-96 horas. Para cuantificar la proliferación de células de músculo liso antes de la aparición de células en la íntima, se administran 0,1 ml del reactivo de marcación BrdU (ZYMED, San Francisco, CA) en forma intravenosa durante el período postoperatorio de 0 a 72 h después del despojo (en total 0,1 ml 6 veces). Para cuantificar la proliferación durante la ola de migración, se les suministró a las ratas 3 x 0,1 ml del reactivo de marcación BrdU a intervalos de 8 horas durante un período de 72-96 horas después de la operación. Para cuantificar la proliferación al final de la ola inicial de migración, se le suministra a un tercer grupo de ratas una dosis pulsada de 0,3 ml de BrdU tres horas antes del sacrificio.

Se fijan las muestras histológicas en una solución de paraformaldehído al 3% durante 4 h para embeberlas en parafina. Se evalúan los cambios morfológicos a partir de las secciones de parafina coloreadas con hematoxilina de Mayer - eosina. Se calculan los recuentos de células de diferentes secciones de vaso con una magnificación de 400x. Para identificar las células en el cultivo y las células que aparecen en la nueva íntima dentro de un lapso de cuatro días de lesión de despojo, se lleva a cabo una coloración inmunohistoquímica de muestras fijadas en acetona utilizando un anticuerpo anti- $\alpha$ -actina obtenido a partir de células de músculo liso (Bio-Makor, Rehovot, Israel). Se identifican las células primarias de músculo liso sobre cubreobjetos de vidrio fijadas en acetona utilizando el mismo método de coloración. Se incuban las secciones con el anticuerpo primario (dilución 1:2000), lavadas, e incubadas consecutivamente con Ig antiratón de conejo conjugado con peroxidasa e Ig anticonejo de cabra, seguido por tratamiento con solución de sustrato con el cromógeno 3-amino-9-etilcarbazol y peróxido de hidrógeno. Se preparan manchas de BrdU a partir de secciones de parafina utilizando un anticuerpo primario de ratón (Bu20a, Dako, A/S, Dinamarca) y el Kit Vectastain Elite ABC (Vector Laboratories, Burlingame, CA). Se elimina la parafina de las secciones y se las trata por medio de un microondas a 500 W (2 x 5 min en amortiguador de citrato 0,1 M, pH 6), seguido por tratamiento con formamida al 95% en citrato trisódico 0,15 M durante 45 min a 70°C. Se preparan diluciones de anticuerpo de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Se contrastan las secciones con hematoxilina de Mayer y eosina, y se hace un recuento separado de las células positivas para la íntima, la media y la adventicia.

## ES 2 336 891 T3

En la carótida e los animales tratados, se encuentra una disminución significativa en el recuento de células para las células de músculo liso. La adventicia y la media mostraron una reducción significativa en el recuento de células. Como resultado de un compuesto de fórmula I, se observa una ligera disminución en el número absoluto de células marcadas con BrdU en la íntima, la media, y la adventicia durante los primeros dos períodos de marcación (0 - 72 y 72 - 96 h), y después de 93 - 96 h se observa una disminución en el número de células marcadas en todo los compartimientos. Se encuentran también disminuciones en el número de células de músculo liso en los animales despojados de aorta.

De acuerdo con estos hallazgos, un compuesto de fórmula I puede inhibir entonces la proliferación, y especialmente la migración, de células vasculares de músculo liso.

Un compuesto de fórmula I también es capaz de inhibir angiogénesis. Esto se puede demostrar de la siguiente manera: se implanta en forma subcutánea una cámara que contiene agar (0,8%) y heparina (2 U/ml) con o sin factor de crecimiento (3  $\mu\text{g/ml}$  de VEGF, 1  $\mu\text{g/ml}$  de PDGF o 0,3  $\mu\text{g/ml}$  de bFGF) en ratones normales (C57 BU6). Se administra un compuesto de fórmula I en forma oral en una dosis que muestra buena actividad antitumoral en un modelo de xenotrasplante de ratón desnudo. La dosificación se inicia un día antes de la implantación de las cámaras. Se remueven las cámaras después de 5 días. Se cuantifica la eficacia angiogénica midiendo tanto el tejido vascularizado que ha crecido alrededor del implante como el contenido de sangre de este tejido (sangre externa). Se determina la sangre midiendo la hemoglobina. Aunque los vasos no crecen dentro del agar, éste se torna de color rojo intenso si está presente un efecto antiangiogénico. Si un compuesto inhibe el incremento en sangre que es inducida por el factor de crecimiento, esto es considerado como una indicación de que el compuesto en cuestión está bloqueando el efecto angiogénico del factor de crecimiento de interés. La inhibición del peso pero no el volumen de sangre sugieren un efecto sobre la proliferación de fibroblastos. Una supresión de la respuesta de control sugiere una inhibición de la cicatrización de la herida. Con una dosis oral de 50 mg/kg una vez al día, un compuesto de fórmula I inhibe el efecto angiogénico de los tres factores de crecimiento (VEGF, PDGF, bFGF).

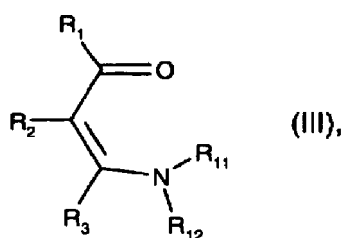
De manera muy interesante, N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida representa al metabolito N-desmetilo de N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-benzamida (STI571). STI571 está descrita en EP 0 564 409 y, en la forma de la sal metano sulfonato, en WO 99/03854. El metabolito N-desmetilo de STI571 es un metabolito activo que está presente en plasma humano en concentraciones de 30 a 50% de STI571 y la vida media es algo mayor que la de STI571. Además, el metabolito N-desmetilo exhibe menos inhibición de ciertas enzimas citocromo P450 (ver el siguiente párrafo), cuando se compara con STI571. Los citocromos P450 son las principales enzimas metabolizantes xenobióticas hepáticas, y menos inhibición de los citocromos P450 reduce el potencial de un compuesto para interacciones clínicas fármaco - fármaco. Entre los compuestos de fórmula I, se da preferencia sobre todos los demás al metabolito N-desmetilo de STI571, es decir N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida.

Con el propósito de evaluar el efecto de los compuestos de fórmula I sobre los citocromos P450 (los CYP), se evalúa rutinariamente por ejemplo la inhibición de la enzima llevando a cabo estudios de inhibición *in vitro* utilizando enzimas expresadas en ADNc o microsomas de hígado humano (Parkinson, A., Toxicol. Pathol. 24, 45 - 57 [1996]). Se pueden utilizar ensayos específicos con sustrato marcador de fármacos de acuerdo con Tucker y colaboradores, Clin. Pharmacol. Ther. 70, 103 - 114 (2001) para determinar la concentración de inhibición del 50% (IC<sub>50</sub>) de un compuesto de fórmula I para las enzimas principales P450 que metabolizan fármaco tales como, por ejemplo, CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4/5 y CP4A9/11.

Las constantes de inhibición K<sub>i</sub> o los valores de IC<sub>50</sub> derivados por estos ensayos *in vitro* proporcionan una medida para la capacidad de inhibición del fármaco analizado de acuerdo con la proporción de concentración de fármaco en plasma con relación a la respectiva constante de inhibición K<sub>i</sub>, donde una proporción >1,0 resulta en un riesgo alto, 1,0 - 0,1 en un riesgo medio, y < 0,1 en un riesgo bajo de interacción metabólica del fármaco. Con base en esto, la N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida posee un riesgo mucho menor de interacciones fármaco-fármaco con las 2 enzimas más importantes P450, CYP2D6 y CYP3A4/5, en el metabolismo del fármaco por un humano (ver el documento guía de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos) cuando se la compara con STI571.

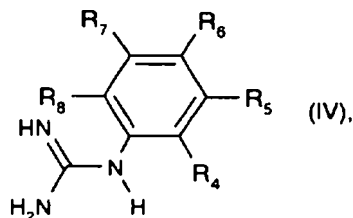
Los compuestos de fórmula I y las sales de tales compuestos que tienen al menos un grupo formador de sales se preparan de acuerdo con procesos ya conocidos. Los procesos de acuerdo con la invención se caracterizan porque:

i) un compuesto de fórmula III



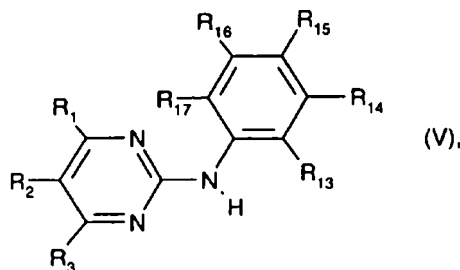
## ES 2 336 891 T3

en donde  $R_{11}$  y  $R_{12}$  son cada uno independientemente entre sí alquilo inferior y  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son como se definió anteriormente, grupos funcionales presentes en un compuesto de fórmula III, con la excepción de los grupos que participan en la reacción, estando si fuera necesario en forma protegida, o una sal de tal compuesto, reacciona con un compuesto de fórmula IV



en donde los sustituyentes son como se definió anteriormente, grupos funcionales presentes en un compuesto de fórmula IV, con la excepción del grupo guanidinio que participa en la reacción, estando si fuera necesario en forma protegida, o con una sal de tal compuesto, y cualquiera de los grupos de protección presentes son removidos, o

20 ii) un compuesto de fórmula V



35 en donde  $R_{16}$  es un radical de fórmula  $-N(R_9)-H$ , en donde  $R_9$  es como se definió anteriormente, y los radicales restantes  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$  y  $R_{17}$  son hidrógeno; y los sustituyentes restantes son como se definió anteriormente, grupos funcionales presentes en un compuesto de fórmula V, con la excepción del grupo amino que participa en la reacción, estando si es necesario en forma protegida, reacciona con un compuesto de fórmula VI



en donde los sustituyentes y los símbolos son como se definió anteriormente, grupos funcionales presentes en un compuesto de fórmula VI, con la excepción del grupo  $HO-C(=X)$  que participa en la reacción, estando si es necesario en forma protegida, o con un derivado reactivo de un compuesto de fórmula VI, y se remueve cualquiera de los grupos de protección,

45 y, si se desea, se convierte un compuesto de fórmula I obtenible por cualquiera de los procesos i) o ii) en su sal, o se convierte una sal obtenible de un compuesto de fórmula I en el compuesto libre.

50 A continuación se explica en detalle el procedimiento para las variantes de los procesos mencionados anteriormente:

### 55 Observaciones generales

Los productos finales de fórmula I pueden contener sustituyentes que también pueden ser utilizados como grupos de protección en los materiales de partida para la preparación de otros productos finales de fórmula I. De este modo, dentro del alcance de este texto, únicamente se designa a un grupo fácilmente removible que no sea constituyente del producto final particular deseado de fórmula I como un "grupo de protección", a menos que el contexto indique otra cosa.

Los grupos de protección, y la forma en la cual se introducen y se remueven se describen, por ejemplo, en "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London, New York 1973, y en "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4th edition, Vol. 15/1, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1974 y en Theodora W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, New York 1981. Una característica de los grupos de protección es que se pueden remover fácilmente, es decir, sin que se presenten reacciones secundarias indeseadas, por ejemplo solvólisis, reducción, fotólisis o alternativamente bajo condiciones fisiológicas.

## ES 2 336 891 T3

Proceso i)

Preferiblemente  $R_{11}$  y  $R_{12}$  son cada uno metilo.

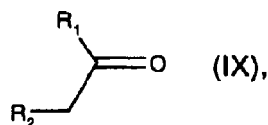
5 Los grupos funcionales libres en un compuesto de fórmula IV que son convenientemente protegidos por grupos de protección fácilmente removibles son especialmente grupos amino, pero también grupos hidroxilo y carboxi.

10 Una sal de un compuesto de fórmula IV es preferiblemente una sal de adición ácida, por ejemplo un nitrato o una de las sales de adición ácida mencionadas para los productos finales de fórmula I.

15 La reacción se lleva a cabo en un solvente adecuado o agente de dispersión, por ejemplo un alcohol adecuado, tal como 2-metoxi-etanol, o un alcohol inferior adecuado, por ejemplo isopropanol, a una temperatura desde temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) hasta 150°C, por ejemplo bajo reflujo. Especialmente cuando se utiliza el compuesto de fórmula IV en la forma de una sal, esa sal es convertida en el compuesto libre, preferiblemente *in situ*, por medio de la adición de una base adecuada, tal como un hidróxido de metal alcalino, por ejemplo hidróxido de sodio.

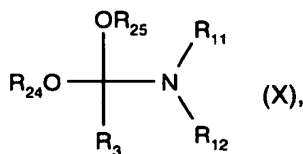
El material de partida de fórmula III se obtiene por reacción de un compuesto de fórmula IX

20



en donde los sustituyentes son como se definió anteriormente, con un compuesto de fórmula X

30



40 en donde  $R_{24}$  y  $R_{25}$  son cada uno alquilo inferior y los sustituyentes restantes son como se definió anteriormente, en una forma análoga a aquella descrita en la Solicitud de Patente Europea que tiene la Publicación No. 233461. Los representantes típicos de un compuesto de fórmula X son N,N-dimetilformamida-dimetilacetil y N,N-dimetilacetamida-dimetilacetil. La reacción se lleva a cabo con calentamiento de los reactivos de las formulas IX y X durante varias horas, por ejemplo desde 4 hasta 24 horas, a una temperatura aproximadamente desde 50°C hasta 150°C, en ausencia o, si se requiere, en presencia de un solvente.

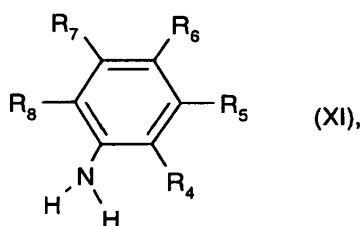
45

El material de partida de formula III se obtiene alternativamente por reacción de un compuesto de formula IX con un éster de fórmula  $R_3-C(=O)-O-CH_2-CH_3$  en donde  $R_3$  es como se definió anteriormente, y la reacción del producto resultante con una amina de la fórmula  $H-N(R_{11})-R_{12}$  en donde los sustituyentes son como se definió anteriormente.

50

El material de partida de fórmula IV se obtiene en la forma de una sal de adición ácida por reacción de un compuesto de fórmula XI

55



65

## ES 2 336 891 T3

en donde los sustituyentes son como se definió anteriormente, con cianamida (NC-NH<sub>2</sub>). La reacción se lleva cabo en un solvente adecuado o agente de dispersión, por ejemplo un alcohol adecuado, por ejemplo un alcohol inferior adecuado, tal como etanol, en presencia de cantidades equimolares del ácido que forma la sal a una temperatura desde temperatura ambiente hasta 150°C, por ejemplo bajo reflujo.

5

Proceso ii)

Los grupos funcionales libres en un compuesto de fórmula V o IV que son convenientemente protegidos por grupos de protección fácilmente removibles son especialmente grupos amino.

10

Un derivado reactivo de un compuesto de fórmula VI en donde X es oxo es especialmente un éster reactivo (activado), un anhídrido reactivo o una amida cíclica reactiva. Lo mismo es cierto para los derivados en donde X tiene una de las otras definiciones dadas anteriormente.

15

Los ésteres reactivos (activados) de un ácido de fórmula VI son especialmente ésteres insaturados en el átomo de carbono enlazante del radical esterificante, por ejemplo ésteres del tipo éster vinílico, tal como los ésteres vinílicos presentes (obtenibles, por ejemplo, por transesterificación del éster correspondiente con acetato de vinilo; método del éster vinílico activado), ésteres carbamoilvinílicos (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con un reactivo isoxazolio; 1,2-oxazolio o método de Woodward), o ésteres de 1-alcoxivinilo inferior (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con un alcoxiacetileno inferior; método del etoxiacetileno), o ésteres del tipo amidino, tales como ésteres amidino N,N'-disustituídos (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con una carbodiimida N,N'-disustituída adecuada, por ejemplo N,N'-díciclohexilcarbodiimida; método de la carbodiimida), o ésteres amidino N,N-disustituídos (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con una cianamida N,N-disustituída; método de la cianamida), ésteres adecuados de arilo, especialmente fenil ésteres adecuadamente sustituidos por sustituyentes que atraigan electrones (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con un fenol adecuadamente sustituido, por ejemplo 4-nitrofenol, 4-metilsulfonilfenol, 2,4,5-triclorofenol, 2,3,4,5,6-pentacloro-fenol o 4-fenildiazofenol, en presencia de un agente de condensación, tal como N,N'-díciclohexilcarbodiimida; método de los ésteres de arilo activados), ciano metil ésteres (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con cloroacetnitrilo en presencia de una base; método de los ésteres de ciano metilo), tío ésteres, especialmente sustituidos o no sustituidos, por ejemplo ésteres nitro-sustituidos, feniltio ésteres (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente por ejemplo con tiofenoles nitro-sustituidos sustituidos o no sustituidos, entre otros por medio del método del anhídrido o de la carbodiimida; método de los tiol ésteres activados), amino o amido ésteres (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con un compuesto N-hidroxi-amino o N-hidroxi-amido, por ejemplo N-hidroxisuccinimida, N-hidroxi-piperidina, N-hidroxi-ftalimida o 1-hidroxi-benzotriazol, por ejemplo por medio del método del anhídrido o de la carbodiimida; método de N-hidroxi ésteres activados), o silil ésteres (que se pueden obtener, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con un agente de sililación, por ejemplo hexametil disilazano, y reaccionan fácilmente con grupos hidroxilo pero no con grupos amino).

40

Los anhídridos de un ácido de fórmula VI pueden ser simétricos o preferiblemente anhídridos mezclados de ese ácido, por ejemplo anhídridos con ácidos inorgánicos, tal como haluros de ácido, especialmente cloruros de ácido (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con cloruro de tionilo, pentacloruro de fósforo o cloruro de oxalilo; método del cloruro de ácido), azidas (obtenibles, por ejemplo, a partir de un éster del ácido correspondiente a través de la hidrazida correspondiente y tratamiento de la misma con ácido nitroso; método de la azida), anhídridos con semiderivados de ácido carbónico, tal como los ésteres correspondientes, por ejemplo los semiésteres de alquilo inferior del ácido carbónico (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con ácido halofórmico, tal como clorofórmico, ésteres ácidos de alquilo inferior o con un 1-alcoxycarbonilo inferior-2-alcoxi inferior-1,2-dihidroquinolina, por ejemplo 1-alcoxycarbonilo inferior-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina; método de los anhídridos mezclados de ácido O-alquilcarbónico), o anhídridos con ácido fosfórico dihalogenado, especialmente diclorado (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con oxiclóruo de fósforo; método del oxiclóruo de fósforo), o anhídridos con ácidos orgánicos, tal como anhídridos mezclados con ácidos carboxílicos orgánicos (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con un haluro de fenilalcano - ácido carboxílico o alcano inferior sustituido o no sustituido, por ejemplo cloruro de ácido fenilacético, cloruro de ácido piválico o cloruro de ácido trifluoroacético; método de anhídridos mezclados de ácido carboxílico) o con ácidos sulfónicos orgánicos (obtenibles, por ejemplo, por tratamiento de una sal, tal como una sal de metal alcalino, del ácido correspondiente, con un haluro adecuado de ácido sulfónico orgánico adecuado, tal como alcano o arilo inferior, por ejemplo cloruro del ácido metano- o p-tolueno-sulfónico; método de anhídridos mezclados de ácido sulfónico), y anhídridos simétricos (obtenibles, por ejemplo, por condensación del ácido correspondiente en presencia de una carbodiimida o de 1-dietilaminopropino; método de anhídridos simétricos).

60

Las amidas cíclica adecuadas son especialmente amidas con diazaciclos de cinco miembros de carácter aromático, tal como amidas con imidazoles, por ejemplo imidazol (obtenible, por ejemplo, por tratamiento del ácido correspondiente con N,N'-carbonildiimidazol; método de la imidazolida), o pirazoles, por ejemplo 3,5-dimetil-pirazol (obtenible, por ejemplo, por medio de la hidrazida ácida por tratamiento con acetilacetona; método de la pirazolida).

65

## ES 2 336 891 T3

Los derivados de ácidos de fórmula VI que pueden ser utilizados como agentes de acilación se pueden formar también *in situ*. Por ejemplo, los ésteres amidino N,N'-disustituídos se pueden formar *in situ* por reacción de una mezcla del material de partida de fórmula V y el ácido utilizado como agente de acilación en presencia de una carbodiimida adecuada N,N-disustituída, por ejemplo N,N'-díciclohexilcarbodiimida. Además, los amino o amido ésteres de los ácidos utilizados como agentes de acilación se pueden formar en presencia del material de partida de fórmula V que van a ser acilados, por reacción de una mezcla del ácido correspondiente y materiales de partida amino en presencia de una carbodiimida N,N'-disustituída, por ejemplo N,N'-díciclohexilcarbodiimida, y una N-hidroxiamina o N-hidroxi-amida, por ejemplo N-hidroxisuccinimida, según el caso en presencia de una base adecuada, por ejemplo 4-dimetilamino-piridina.

La reacción se lleva a cabo preferiblemente por reacción de un derivado reactivo de ácido carboxílico de un compuesto de fórmula VI con un compuesto de fórmula V en donde el grupo amino que participa en la reacción está en forma libre.

La reacción se puede llevar cabo en una forma conocida, siendo las condiciones de la reacción especialmente dependientes sobre sí, y si es así cómo, el grupo carboxi del agente de acilación ha sido activado, usualmente en presencia de un solvente adecuado o diluyente o de una mezcla de los mismos y, si es necesario, en presencia de un agente de condensación, el cual, por ejemplo cuando el grupo carboxi que participa en la reacción está en la forma de un anhídrido, puede ser también un agente enlazante ácido, con enfriamiento o calentamiento, por ejemplo en un rango de temperatura aproximadamente de -30°C hasta aproximadamente +150°C, especialmente aproximadamente desde 0°C hasta +100°C, preferiblemente desde temperatura ambiente (aprox. +20°C) hasta +70°C, en un recipiente de reacción abierto o cerrado y/o en la atmósfera de un gas inerte, por ejemplo nitrógeno. Los agentes de condensación habituales son, por ejemplo, carbodiimidas, por ejemplo N,N'-dietil-, N,N'-dipropil-, N,N'-díciclohexil- o N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida, compuestos carbonilo adecuados, por ejemplo carbonildiimidazol, o compuestos 1,2-oxazolio, por ejemplo 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio 3'-sulfonato y perclorato de 2-tert-butil-5-metil-iso-oxazolio, o un compuesto acilamino adecuado, por ejemplo 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina. Los agentes de condensación enlazantes ácidos habituales son, por ejemplo, carbonatos de metal alcalino o carbonatos ácidos, por ejemplo carbonato de sodio o de potasio o carbonato ácido (habitualmente junto con un sulfato), o bases orgánicas, tales como, habitualmente, piridina o trietilaminas estéricamente impedidas, por ejemplo N,N-diisopropil-N-etilamina.

En una variante preferida del proceso ii) un compuesto de fórmula V reacciona con un compuesto de fórmula VI en un solvente adecuado, tal como por ejemplo N,N-dimetilformamida, en presencia de anhídrido propilfosfónico (Fluka, Buchs, Suiza) y trietilamina, preferiblemente a temperatura ambiente.

Las sales de adición ácida de compuestos de fórmula I se obtienen en forma habitual, por ejemplo por tratamiento con un ácido o un reactivo adecuado de intercambio aniónico.

Las sales de adición ácida se pueden convertir en los compuestos libres en forma habitual, por ejemplo por tratamiento con un agente básico adecuado.

Las mezclas de isómeros se pueden separar en los isómeros individuales en una forma ya conocida, por ejemplo por cristalización fraccionada, cromatografía, etc.

Los procesos descritos anteriormente, incluidos los procesos para remover los grupos de protección y las etapas adicionales del proceso, son, a menos que se indique otra cosa, llevados a cabo en una forma ya conocida, por ejemplo en presencia o en ausencia preferiblemente de solventes inertes y diluyentes, si es necesario en presencia de agentes de condensación o catalizadores, a temperatura reducida o elevada, por ejemplo en un rango de temperatura aproximadamente desde -20°C hasta aproximadamente 150°C, especialmente aproximadamente desde 0°C hasta aproximadamente +70°C, preferiblemente aproximadamente desde +10°C hasta aproximadamente +50°C, y más especialmente a temperatura ambiente, en un recipiente adecuado y si es necesario en una atmósfera de gas inerte, por ejemplo en una atmósfera de nitrógeno.

En esas etapas del proceso, teniendo en cuenta todos los sustituyentes de la molécula, si es necesario, por ejemplo cuando están presentes radicales fácilmente hidrolizables, se deben utilizar condiciones de reacción especialmente suaves, tales como tiempos de reacción cortos, el uso de agentes básicos o ácidos suaves en bajas concentraciones, proporciones en cantidades estequiométricas, y la selección de catalizadores adecuados, solventes, condiciones de temperatura y/o presión.

La invención se relaciona también con aquellas formas del proceso en las cuales se utiliza un compuesto obtenible como intermediario en cualquier etapa del proceso como material de partida y se llevan a cabo las etapas restantes o se interrumpe el proceso en cualquier etapa o se forma un material de partida bajo las condiciones de reacción o se utiliza en la forma de un derivado de reactivo o de una sal. Es preferible comenzar con aquellos materiales de partida que de acuerdo con el proceso resultan siendo especialmente valiosos en los compuestos descritos anteriormente.

Preferiblemente, los compuestos de fórmula I se preparan de acuerdo con los procesos y etapas del proceso definidas en los Ejemplos.

## ES 2 336 891 T3

La presente invención se relaciona también con nuevos materiales de partida y/o intermediarios y con procesos para la preparación de los mismos. Los materiales de partida utilizados y las condiciones de reacción escogidas son preferiblemente aquellas que resultan siendo especialmente valiosos en los compuestos descritos en esta Solicitud.

5 La invención se relaciona además con el uso de un compuesto de fórmula I para la preparación de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento del organismo de humanos o de animales, especialmente para el tratamiento de tumores, tales como gliomas, tumores de ovario, tumores de próstata, tumores de colon, y tumores del pulmón, tales como especialmente carcinoma de pulmón de células pequeñas, y tumores de seno u otros tumores ginecológicos. Dependiendo de la especie, la edad, de la condición individual, de la forma de administración, y del cuadro clínico en  
10 cuestión, se administran dosis efectivas, por ejemplo dosis diarias de aproximadamente 1-2500 mg, preferiblemente 1-1000 mg, especialmente 5-500 mg, a animales de sangre caliente, incluidos humanos, de aproximadamente 70 kg de peso corporal.

La invención se relaciona también con preparaciones farmacéuticas que contienen una cantidad efectiva, especial-  
15 mente una cantidad efectiva para la prevención o el tratamiento de una de dichas enfermedades, de un compuesto de fórmula I junto con excipientes farmacéuticamente aceptables que son adecuados para administración tópica, enteral, por ejemplo oral o rectal, o parenteral y pueden ser orgánicos o inorgánicos y sólidos o líquidos. Se utilizan especial-  
20 mente para administración oral tabletas o cápsulas de gelatina que contienen la sustancia activa junto con diluyentes, por ejemplo lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, y/o glicerina, y/o lubricantes, por ejemplo sílice, talco, ácido esteárico, o sales del mismo, típicamente estearato de magnesio o de calcio, y/o polietilén glicol. Las tabletas pueden contener igualmente aglomerantes, por ejemplo silicato de magnesio y aluminio, almidones, típicamente almidón de maíz, trigo o arroz, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona, y, si se desea, desintegrantes, por ejemplo almidones, agar, ácido algínico, o una sal del mismo, típicamente alginato de sodio, y/o mezclas efervescentes, o adsorbentes, agentes de coloración, saborizantes, y agentes edulcorantes. Los  
25 compuestos farmacológicamente activos de la presente invención pueden ser utilizados además en la forma de preparaciones para administración parenteral o soluciones en infusión. Tales soluciones son preferiblemente soluciones o suspensiones acuosas isotónicas, siendo estas posiblemente preparadas antes de utilizarlas, por ejemplo en el caso de preparaciones liofilizadas que contienen la sustancia activa ya sea solas o junto con un excipiente, por ejemplo manitol. Las sustancias farmacéuticas pueden ser esterilizadas y/o pueden contener excipientes, por ejemplo preser-  
30 vantes, estabilizadores, agentes de humectación y/o emulgentes, solubilizantes, sales para la regulación de la presión osmótica, y/o amortiguadores. Las presentes preparaciones farmacéuticas que, si se desea, pueden contener sustancias farmacológicamente activas adicionales, tales como antibióticos, se preparan en una forma ya conocida, por ejemplo por medio de mezclas convencionales, granulación, recubrimiento, procesos de disolución o de liofilización, y contienen aproximadamente desde 1% hasta 100%, especialmente aproximadamente desde 1% hasta aproximadamente  
35 20%, de la sustancia o sustancias activas.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención. Los valores de  $R_f$  se determinan sobre placas de gel de sílice en capa delgada (Merck, Darmstadt, Alemania). La proporción de eluyentes entre sí en las mezclas eluyentes utilizadas se da en proporciones en volumen (v/v), y las temperaturas se dan en grados Celsius.

### Abreviaturas

conc.	concentrado
Ej. No.	ejemplo número
min	minuto(s)
p. f.	punto de fusión
$t_R$	tiempo de retención
% p/p	porcentaje en peso.

### Ejemplo de Referencia 1

Una suspensión de 466 mg (1 mmol) de clorhidrato de 4-clorometil-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida en 25 ml de etanol seco es tratada con 381  $\mu$ l (3 mmol) de N-etilpiperazina y luego calentada a reflujo durante 16 horas. Se enfría la solución amarilla a temperatura ambiente y se decanta a partir de una pequeña cantidad de un residuo marrón insoluble que se forma sobre la pared del frasco. Se evapora el solvente y se recoge el residuo en una solución de ácido cítrico (10% p/p) y se lava con diclorometano. Se torna básica la capa acuosa por adición de solución de bicarbonato de sodio y de carbonato de sodio y se extrae tres veces con 150 ml de dicloro-  
60 metano que contiene 2 ml de etanol. Se lavan los extractos orgánicos combinados con solución conc. de cloruro de sodio, se seca sobre sulfato de sodio, y se evapora. Se agitó el residuo con 3 ml de acetato de etilo y se filtró y lavó el producto cristalino con una pequeña cantidad de acetato de etilo para obtener 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida; p. f. 209,5-210,5°C;  $t_R$  (HPLC)<sup>1)</sup> 6,62 min.

## ES 2 336 891 T3

### Ejemplos 2-8

Los compuestos se sintetizan en forma análoga al Ejemplo 1:

5	Ej. No.	Compuesto	p. f. [°C]	HPLC <sup>1)</sup> t <sub>R</sub> [min]
	2	4-Dietilaminometil-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida	148 - 151	7,23
10	3	4-Dimetilaminometil-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida	127 - 131	6,84
	4	N-[4-Metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-pirrolidin-1-ilmetil-benzamida	166 - 170	7,09
15	5	N-[4-Metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-morfolin-4-ilmetil-benzamida	219 - 221	6,84
	6	4-(cis-3,5-Dimetil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida	135,5 - 138,5	6,50
20	7	N-[4-Metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperidin-1-ilmetil-benzamida	197 - 199	6,66
25	8	N-[4-Metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-(4-propil-piperazin-1-ilmetil)-benzamida	209 - 210	7,43

### 30 Ejemplo 9

Se suspenden 25,8 g (300 mmol) de piperazina en una mezcla de 25 ml de etanol y 25 ml de agua. Después de que se ha formado una solución casi clara, se añaden lentamente 12,9 g (30 mmol) de 4-clorometil-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida. La solución amarilla ebulle a reflujo durante 14 horas, se enfría a temperatura ambiente y se filtra sobre Celita. Se añaden 100 ml de agua a la solución, se evapora el etanol al vacío y se añaden 30 ml de NaOH 1 N, conduciendo a la cristalización del producto. El secado a 50 mbar y 60°C produce N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida; R<sub>f</sub> = 0,15 (cloruro de metileno : acetato de etilo : metanol : solución acuosa conc. de hidróxido de amonio = 60:10:30:2); t<sub>R</sub> (HPLC)<sup>2)</sup> 14,6 min.

40

### Ejemplo 10

Se disuelven 4,8 g (10 mmol) de N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida en 20 ml de etanol bajo calentamiento y se añaden 0,99 g de ácido metano sulfónico. Después de la adición de acetato de etilo cristaliza el producto. El secado a 50 mbar y 60°C produce N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida metanosulfonato; R<sub>f</sub> = 0,17 (cloruro de metileno : acetato de etilo : metanol : solución acuosa conc. de hidróxido de amonio = 60:10:30:2); t<sub>R</sub> (HPLC)<sup>2)</sup> 14,6 min; p. f. 242 - 245°C.

50

#### Condiciones analíticas de HPLC

- 1) Sistema de HPLC: Sistema 420 de Kontron; columna: CC 250/4,6 nucleosil 100-5 C18; velocidad de flujo: 1 ml/min.

55

Eluyentes:

A: agua (+ ácido trifluoroacético al 0,1%)

60

B: acetonitrilo (+ ácido trifluoroacético al 0,1%)

Gradiente: 20% → 0% de A en B en 13 min y 100% de B durante 5 min.

65

## ES 2 336 891 T3

- 2) Sistema de HPLC: Columna: 150 x 3,9 mm, empacada con Symmetry C18 5P (Waters), pre- equilibrada con eluyente a); velocidad de flujo 1,2 ml/min, detección UV a 267 nm.

Eluyentes:

a): reactivo de par iónico y metanol (420 ml + 580 ml)

b): reactivo de par iónico y metanol (40 ml + 960 ml)

Reactivo de par iónico: 7,5 g de ácido 1-octanosulfónico disueltos aproximadamente en 800 ml de H<sub>2</sub>O, valor de pH ajustado en 2,5 con ácido fosfórico y diluido con agua hasta 1000 ml

Gradiente: 0% de b) en a) durante 20 min, seguido por 0% → 30% de b) en a) en 10 min y 30% de b) en a) durante 5 min.

### Ejemplo 11

Se preparan usualmente tabletas que contienen 100 mg de un compuesto de fórmula I, por ejemplo uno de los compuestos de fórmula I descrito en los Ejemplos 1-10, en la siguiente composición:

#### *Composición*

Ingrediente activo	100 mg
Lactosa cristalina	240 mg
Avicel	80 mg
PVPPXL	20 mg
Aerosil	2 mg
Estearato de magnesio	5 mg
	<hr/>
	447 mg

*Preparación:* Se mezcla la sustancia activa con materiales portadores y se comprimen sobre una máquina tableteadora (Korsch EKO, diámetro del punzón 10 mm).

Avicel es celulosa microcristalina (FMC, Filadelfia, EUA).

PVPPXL es polivinilpolipirrolidona, entrelazada (BASF, Alemania).

Aerosil es dióxido de silicio (Degussa, Alemania).

### Ejemplo 12

Se preparan usualmente cápsulas que contienen 100 mg de un compuesto de fórmula I, por ejemplo uno de los compuestos de fórmula I descrito en los Ejemplos 1-10, en la siguiente composición:

#### *Composición*

Ingrediente activo	100 mg
Avicel	200 mg
PVPPXL	15 mg
Aerosil	2 mg
Estearato de magnesio	1.5 mg
	<hr/>
	318,5 mg

*Preparación:* Se preparan las cápsulas mezclando los componentes y se coloca la mezcla en cápsulas de gelatina dura, tamaño 1.

**Referencias citadas en la descripción**

Este listado de referencias citado por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento europeo de la patente. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación, no se pueden excluir los errores o las omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad en este sentido.

**Documentos de patente citados en la descripción**

- 10 • EP 0564409 A [0033] • EP 233461 A [0044]
- WO 9903854 A [0033]

15 **Literatura citada en la descripción que no es de patente**

- E. Andrejauskas-Buchdunger; U. Regenass. *Cancer Research*, 1992, vol. 52, 5353 - 5358 [0014]
- Trinks y colaboradores, *J. Med. Chem.*, 1994, vol. 37, 1015 - 27 [0014]
- 20 • Buchdunger y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)*, 1995, vol. 92, 2558 - 62 [0017]
- N. Lydon y colaboradores, *Oncogene Research*, 1990, vol. 5, 161 - 173 [0020]
- 25 • J. F. Geissler y colaboradores, *Cancer Research*, 1992, vol. 52, 4492 - 8 [0020]
- *Nature Medicine*, 1996, vol. 2, 561 - 566 [0021]
- *Differentiation*, 1983, vol. 25, 156 - 67 [0025]
- 30 • Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *NIH Publication* 86 -23, 1985 [0027]
- Parkinson, A. *Toxicol. Pathol.*, 1996, vol. 24, 45 - 57 [0034]
- 35 • Tucker y colaboradores, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2001, vol. 70, 103 - 114 [0034]
- Protective Groups in Organic Chemistry. *Plenum Press*, 1973 [0039]
- Houben-Weyl. *Methoden der organischen Chemie. Georg-Thieme-Verlag*, 1974, vol. 15/1 [0039]
- 40 • Theodora W. Greene. *Protective Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons*, 1981 [0039]

45

50

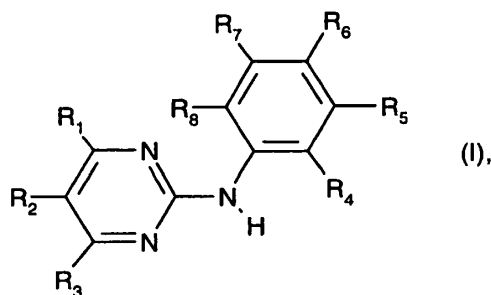
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de N-fenil-2-pirimidin-amina de fórmula I



20 en donde

R<sub>1</sub> es piridilo enlazado a un átomo de carbono del anillo,

R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son ambos hidrógeno,

25 R<sub>4</sub> es alquilo inferior,

R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son ambos hidrógeno,

30 R<sub>7</sub> es un radical de fórmula II,



35 en donde

R<sub>9</sub> es hidrógeno,

X es oxo

40 N es 0 y

R<sub>10</sub> es fenilo que está

a) sustituido por alquilo inferior que está sustituido por mono o dialquilamino inferior, o

45 b) sustituido por un radical no sustituido o sustituido por alquilo inferior seleccionado del grupo que consiste del alquilo inferior pirrolidinilo, del alquilo inferior piperidilo y del alquilo inferior morfolinilo, o

50 c) sustituido por el alquilo inferior piperazinilo que está opcionalmente sustituido en el anillo de piperazina por alquilo inferior C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>,

y R<sub>6</sub> es hidrógeno,

55 en donde el término "inferior" denota radicales que tienen hasta e incluyen 7 átomos de carbono,

o una sal de un compuesto tal que tiene al menos un grupo que forma una sal.

60 2. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 que es N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-4-piperazin-1-ilmetil-benzamida, y sales farmacéuticamente aceptables de la misma.

3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 o una sal farmacéuticamente aceptable de tal compuesto.

65 4. El uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 o una sal farmacéuticamente aceptable de tal compuesto para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de un trastorno proliferativo.